

COMPUESTOS QUÍMICOS Y SUS USOS

CAMPO DE LA INVENCION

Se divulgan en la presente ciertos compuestos que inhiben la actividad de la enzima helicasa del síndrome de Werner (WRN), en particular inhiben la actividad del dominio helicasa dependiente de ATP y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de cánceres tratables mediante la inhibición de WRN, incluidos cánceres caracterizados por inestabilidad de microsatélites (MSI) y/o sistema defectuoso de reparación de errores de emparejamiento del ADN (dMMR). Además, se divulgan composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos y métodos de fabricación de los mismos.

LISTADO DE SECUENCIAS

Esta solicitud contiene un Listado de Secuencias que ha sido presentado electrónicamente en formato XML y que se incorpora por referencia en su totalidad. Dicho XML, creado el 28 de mayo de 2024, se denomina 70333WO02 Seq List XML 28May2024.xml y tiene un tamaño de 6.092 bytes.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer es una de las principales causas de muerte en todo el mundo. Una de las limitaciones de los enfoques terapéuticos actuales, por ejemplo la quimioterapia, es que sus efectos citotóxicos no se limitan a las células cancerosas y se pueden producir efectos secundarios adversos en los tejidos normales. Por consiguiente, se necesitan nuevas estrategias para atacar mejor a las células cancerosas.

La letalidad sintética (LS) surge cuando una combinación de deficiencias en la expresión de dos o más genes o la correspondiente pérdida de función de proteínas de productos génicos relacionados (por ejemplo, como resultado de una o más mutaciones cromosómicas) conduce a la muerte celular, mientras que una deficiencia/pérdida de función singular no lo hace. Por ejemplo, uno de los genes (o productos génicos) puede estar implicado en la proliferación celular, mientras que el otro de los genes (o productos génicos) puede ser un gen no esencial. El concepto de letalidad sintética tiene su origen en estudios realizados en sistemas modelo de *Drosophila* en los que una combinación de mutaciones en dos o más genes separados conduce a la muerte celular (en contraste con la viabilidad, o

incluso la proliferación celular, que se produce cuando solo uno de los genes está mutado o eliminado). Más recientemente, los estudios han explorado los cambios genéticos maladaptativos en las células cancerosas que las hacen vulnerables a los enfoques de letalidad sintética. Estos defectos genéticos específicos del tumor pueden crear una vulnerabilidad que permita el uso de agentes dirigidos que sean sintéticamente letales para dicho defecto genómico específico del tumor e induzcan la muerte de las células tumorales al tiempo que preservan las células normales.

Las alteraciones en las vías de reparación del ADN predisponen a las células a acumular daños en el ADN. Se sabe que varios tipos de tumores acumulan más mutaciones en el ADN a medida que el cáncer progresa. Por lo tanto, las vías implicadas en la reparación del ADN pueden ser el objetivo de tratamientos citotóxicos basados en la letalidad sintética, volviendo los procesos de reparación desregulados contra sí mismos para inducir la muerte tumoral.

La identificación de interacciones SL relevantes en los cánceres es un área en la que se centran los esfuerzos de descubrimiento biológico. En un estudio con levaduras para descubrir interacciones SL entre genes supresores de tumores y dianas farmacológicas, se descubrió que SGS1, gen que codifica una helicasa RECQ, era SL con varios genes del estudio. En el mismo estudio con células humanas, la helicasa del síndrome de Bloom (BLM), una de las cinco helicasas RECQ humanas, era SL con cinasa de punto de control (CHEK) 1 y 2 (Srivastava R, et al., Mol Cell 2016;63(3):514–25). Durante la reparación de daños en el ADN (DDR), BLM participa en la recombinación homóloga (HR). Las helicasas RECQ son ATPasas dependientes de ADN que desenrollan el ADN de 3' a 5'. Tres helicasas RECQ, BLM, WRN (WRN) y RECQL4, causan síndromes humanos que se solapan, pero que también son distintos sintomáticamente, cuando se altera o se pierde su expresión (de Renty C, Ellis NA. Ageing Res Rev 2017; 33:36–51). Esto sugiere que pueden tener funciones superpuestas y distintas basadas en cuándo y dónde se expresan en las células, sus interacciones proteína–proteína y modificaciones postraduccionales.

Otro estudio (DRIVE) que utiliza aproximadamente 400 líneas celulares incluye datos a partir de los cuales se puede demostrar que WRN no es ampliamente esencial, pero que las líneas celulares MSI de tejidos de origen de intestino grueso, endometrio y estómago son sensibles a los ARNhc de WRN (McDonald ER, 3rd, de Weck A, Schlabach MR, Billy E, Mavrakis KJ, Hoffman GR, et al., Cell 2017;170(3):577–92). El estudio DepMap, que se deriva en parte de los datos de DRIVE, también halló un patrón de esencialidad de WRN en líneas

celulares MSI (Tsherniak A, Vazquez F, Montgomery PG, Weir BA, Kryukov G, Cowley GS, et al., Cell 2017;170(3):564–76). Ninguna de las otras helicasas RECQ humanas analizadas en el estudio mostró esta interacción MSI SL.

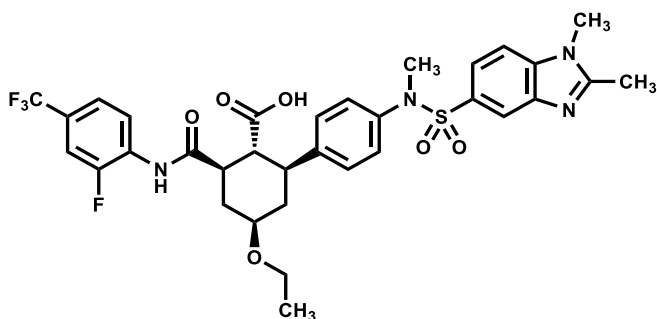
En confirmación de los estudios DRIVE y DepMap, varios laboratorios han informado de que la supervivencia de las células cancerosas con alta inestabilidad de microsatélites se ve selectivamente comprometida por el knockout de WRN (Behan, F.M. et. al., Nature 2019; 568(7753): 511–16, Chan, E.M. et al., Nature 2019; 568 (551–556), Lieb, S. et al., eLife 2019;8:e43333, Kategaya, L. et al., iScience 2019; 13:488–497). WRN es una enzima que tiene tanto un dominio de exonucleasa como un dominio de helicasa dependiente de ATP. Kategaya, L. y otros, supra, identificaron una relación de letalidad sintética entre pacientes que tienen tumores caracterizados por una alta inestabilidad de microsatélites y, en particular, la actividad del dominio helicasa dependiente de ATP de la proteína WRN. La identificación de pacientes que tienen tumores caracterizados por una alta inestabilidad de microsatélites, que refleja una alta frecuencia de inestabilidad de microsatélites, es conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo, según lo divulgado por Dudley, Jonathan C., et al., Clinical Cancer Research, 22(4): 813–820, 2016.).

Estos resultados indican que los inhibidores de WRN pueden proporcionar una terapia novedosa para pacientes con cáncer que tienen tumores con inestabilidad de microsatélites (MSI) como un marcador de reparación de errores de emparejamiento del ADN (dMMR), incluidos aquellos pacientes con tumores con MSI alta. Los microsatélites son secuencias repetitivas de ADN con unidades de longitud variable (por ejemplo, de una (mononucleótidos) a seis bases (di-, tri-, tetra-, penta-, esa-nucleótidos)) distribuidas a lo largo de regiones codificantes y/o no codificantes del genoma. Las mutaciones de dichos microsatélites, por ejemplo, las alteraciones de la longitud de repetición, pueden representar inestabilidad de microsatélites. Como se conoce en la técnica y se describe con más detalle en la presente, la MSI puede detectarse (por ejemplo, directamente) mediante pruebas moleculares (por ejemplo, con respecto a determinados microsatélites) o (por ejemplo, indirectamente) mediante evaluación inmunohistoquímica (por ejemplo, con respecto a la expresión de determinadas proteínas MMR). Basándose en un consenso del Panel de Referencia del NCI (Bethesda, 1998), la MSI puede evaluarse mediante pruebas moleculares de cinco microsatélites, incluidos dos mononucleótidos (BAT25 y BAT26) y tres dinucleótidos (D2S123, D5S346, D17S250). Los tumores pueden clasificarse en diferentes subtipos basándose en dicho enfoque del Panel de Referencia del NCI para las pruebas moleculares, incluyendo MSI-alto (MSI-H) si dos o más de los marcadores de microsatélite muestran inestabilidad,

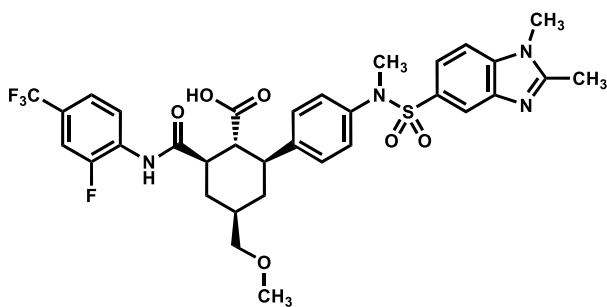
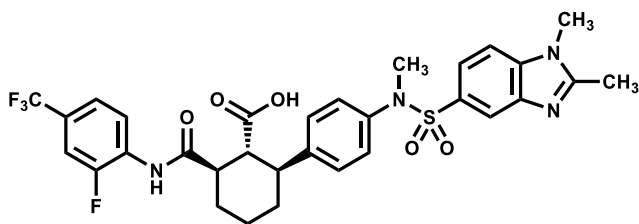
MSI–bajo (MSI–L) si solo un marcador de microsatélite muestra inestabilidad, y MS–estable (MSS) si ninguno de los cinco marcadores de microsatélite muestra inestabilidad (es decir, cada uno de los cinco marcadores de microsatélite se determinan como estables). En algunos casos, por ejemplo, cuando las pruebas moleculares o la evaluación inmunohistoquímica no son capaces de distinguir entre MSI–L e inestabilidad cromosómica general, los tumores pueden clasificarse como neoplasias MSS.

SUMARIO DE LA INVENCION

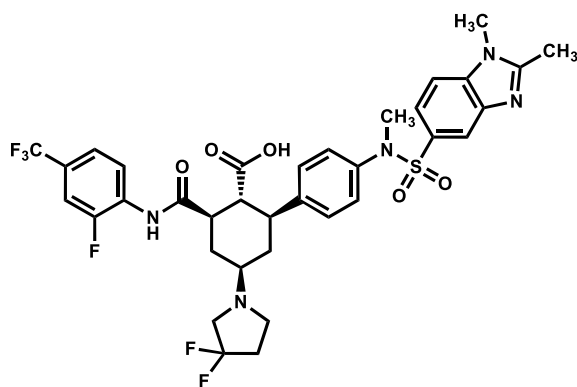
En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



10



, y



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende a) un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención divulgados en la presente y b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de la invención divulgado en la presente para su uso en terapia.

En un cuarto aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de la invención divulgado en la presente para su uso en el tratamiento del cáncer.

En un quinto aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer en un sujeto que lo necesita que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención divulgado en la presente o composición farmacéutica como se divulga en la presente.

En un sexto aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de un compuesto de la invención divulgada en la presente en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** muestra un estudio de eficacia del compuesto del Ejemplo 138 en un modelo de ratón portador de xenoinjertos de línea celular de cáncer colorrectal humano SW48.

La **Figura 2** muestra un estudio de eficacia del compuesto del Ejemplo 83 en un modelo de ratón portador de xenoinjertos de línea celular de cáncer colorrectal humano SW48.

La **Figura 3** muestra un estudio de eficacia del compuesto del Ejemplo 250 en un modelo de ratón portador de xenoinjertos de línea celular de cáncer colorrectal humano SW48.

La **Figura 4** muestra un estudio de eficacia del compuesto del Ejemplo 306 en un modelo de ratón portador de xenoinjertos de línea celular de cáncer colorrectal humano SW48.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones:

10 Tal como se utilizan en la presente, los términos “un” y “una” deben interpretarse en singular y plural, a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, la frase “un excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 El término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellos compuestos (incluidas las sales), materiales, composiciones y formas de dosificación que son, dentro del ámbito del buen juicio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

20 Tal como se utiliza en la presente, el término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto en cuestión y presentan efectos toxicológicos no deseados mínimos. Dicha sal farmacéuticamente aceptable puede prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación finales del compuesto, o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre o base libre con una base o ácido adecuados, respectivamente. Cuando los compuestos descritos en la presente contienen funcionalidades relativamente ácidas, pueden obtenerse sales de adición de base poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente de la base deseada, ya sea pura o en un disolvente inerte adecuado. Ejemplos de sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, manganeso, potasio, sodio, zinc. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluidas aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas naturales, como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibencilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina,

25

30

metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina. Cuando los compuestos de la presente divulgación contienen funcionalidades relativamente básicas, pueden obtenerse sales de adición ácida poniendo en contacto la forma neutra de dichos compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un disolvente inerte adecuado. Los ejemplos de sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen los derivados de ácidos inorgánicos como el clorhídrico, bromhídrico, nítrico, carbónico, monohidrógeno carbónico, fosfórico, monohidrógeno fosfórico, dihidrógeno fosfórico, sulfúrico, monohidrógeno sulfúrico, yodhídrico, o fosfórico, así como las sales derivadas de ácidos orgánicos relativamente no tóxicos como el acético, propiónico, isobutírico, malónico, benzoico, succínico, subérico, fumárico, mandélico, ftálico, bencenosulfónico, p-tolilsulfónico, cítrico, tartárico, metanosulfónico. También se incluyen sales de aminoácidos como el arginato, y sales de ácidos orgánicos como los ácidos glucurónico o galactunónico (véase, por ejemplo, Berge, S.M., et al, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Science, 1977, 66, 1-19). Ciertos compuestos específicos de la presente divulgación contienen funcionalidades tanto básicas como ácidas que permiten que los compuestos se conviertan en sales de adición básica o ácida.

Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse poniendo en contacto la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto original de la manera convencional. La forma madre del compuesto difiere de las diversas formas salinas en ciertas propiedades físicas, como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás las sales son equivalentes a la forma madre del compuesto a los efectos de la presente divulgación.

La presente divulgación también incluye profármacos del compuesto aquí divulgado o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Tal como se utiliza en la presente, el término "profármaco" se refiere a compuestos que se someten fácilmente a cambios químicos en condiciones fisiológicas para proporcionar un compuesto original farmacológicamente activo. El término "resto del profármaco" se refiere al resto químico de un profármaco que se libera en condiciones fisiológicas para formar el compuesto original activo. Un ejemplo, sin limitación, de profármaco sería un compuesto que se administra como un éster (el "profármaco"), pero que luego se hidroliza metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa. Además, los profármacos pueden convertirse en los compuestos de la presente divulgación mediante métodos químicos o bioquímicos en un entorno ex vivo. Por ejemplo, los profármacos pueden convertirse lentamente en los compuestos de la presente divulgación cuando se colocan en un depósito de parche transdérmico con una enzima o reactivo químico

adecuado.

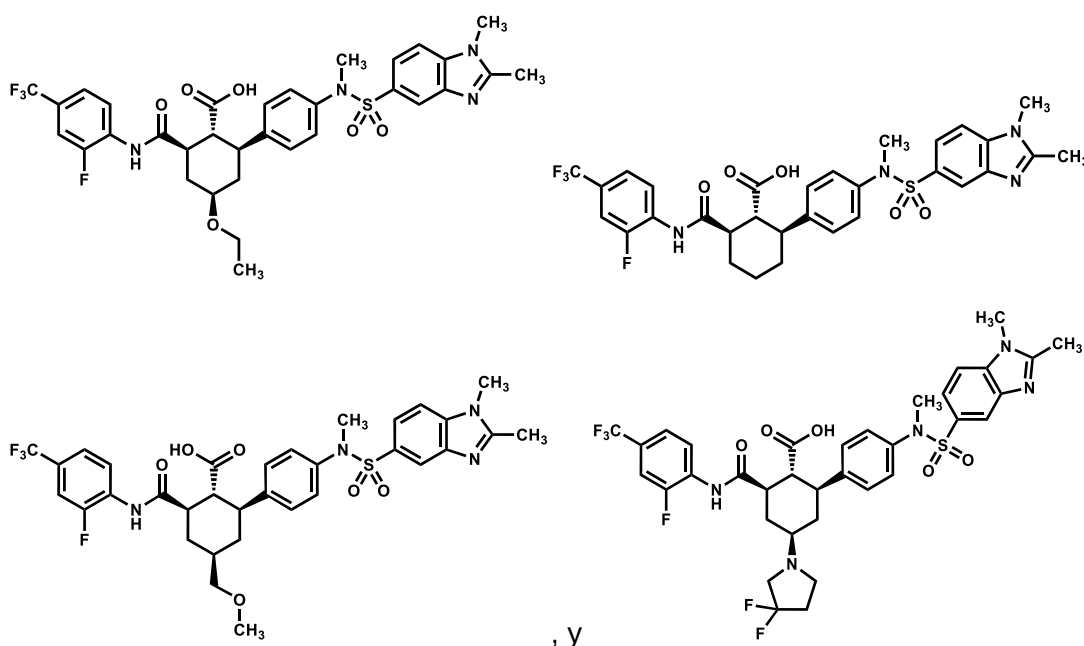
Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas, incluidas las formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y se pretende abarcarlas dentro del
5 ámbito de la presente divulgación. Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente divulgación y se pretende que estén dentro del alcance de la presente divulgación.

Ciertos compuestos de la presente divulgación poseen átomos de carbono asimétricos
10 (centros ópticos) o dobles enlaces; los racematos, diastereómeros, isómeros geométricos, regioisómeros e isómeros individuales (por ejemplo, enantiómeros separados) se incluyen en el ámbito de la presente divulgación. Cuando se muestra una representación estereoquímica, se refiere al compuesto en el que uno de los isómeros está presente y sustancialmente libre del otro isómero. "Sustancialmente libre de" otro isómero indica al menos una proporción 80/20
15 de los dos isómeros, más preferentemente 90/10, o 95/5 o más. En algunas formas de realización, uno de los isómeros estará presente en una cantidad de al menos el 99 %.

Ciertos compuestos de la presente divulgación pueden existir como tautómeros y/o isómeros geométricos. Todos los posibles tautómeros e isómeros cis y trans, como formas individuales y mezclas de los mismos están dentro del alcance de la presente divulgación.

Los compuestos de la presente divulgación también pueden contener cantidades no
20 naturales de isótopos en uno o más de los átomos que constituyen dichos compuestos. Las cantidades no naturales de un isótopo pueden definirse como aquellas que van desde la cantidad encontrada en la naturaleza hasta una cantidad del 100 % del átomo en cuestión. Que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos.
25 Los isótopos ejemplares que pueden incorporarse a compuestos de la presente divulgación, como un compuesto de la presente divulgación, incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, cloro y yodo, como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{123}I y ^{125}I , respectivamente. Los compuestos marcados isotópicamente (por ejemplo, los marcados con ^3H y ^{14}C) pueden ser útiles en ensayos de
30 distribución tisular de compuestos o sustratos. Los isótopos tritados (es decir, ^3H) y de carbono 14 (es decir, ^{14}C) pueden ser útiles por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, como el deuterio (es decir, ^2H), puede ofrecer ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad metabólica (por

ejemplo, mayor semivida in vivo o menores requisitos de dosificación). En algunas formas de realización, en los compuestos aquí divulgados, uno o más átomos de hidrógeno se sustituyen por ^2H o ^3H , o uno o más átomos de carbono se sustituyen por carbono enriquecido con ^{13}C o ^{14}C . Los isótopos emisores de positrones como ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{15}F son útiles para estudios de tomografía por emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Los compuestos marcados isotópicamente pueden prepararse generalmente siguiendo procedimientos análogos a los descritos en los Esquemas o en los Ejemplos del presente documento, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente. Así, en una forma de realización, la presente invención incluye:



en donde que uno o más átomos de hidrógeno unidos a átomos de carbono se sustituyen por deuterio.

“Enfermedad” es sinónimo de “trastorno”, “síndrome” y “afección” (como en medicina), y se utiliza indistintamente, ya que todos reflejan una condición anormal del cuerpo humano o animal, o de una de sus partes, que altera el funcionamiento normal, se manifiesta típicamente por signos y síntomas distintivos, y hace que el ser humano o animal tenga una duración o calidad de vida reducida.

“Paciente” suele ser sinónimo de “sujeto” y, tal como se utiliza en la presente, incluye a todos los mamíferos, incluidos los seres humanos. Ejemplos de pacientes son seres humanos, ganado como vacas, cabras, ovejas, cerdos y conejos, y animales de compañía como perros, gatos, conejos y caballos. Preferentemente, el paciente es un ser humano.

Por “necesidad de tratamiento” se entiende la opinión de un médico u otro cuidador de que un sujeto necesita o se beneficiará de un tratamiento. Este juicio se basa en una serie de factores que pertenecen al ámbito de la experiencia del médico o cuidador.

5 “Administración” y “administrar”, tal como se aplican, por ejemplo, a un paciente, célula, tejido, órgano o fluido biológico, se refieren al contacto de, por ejemplo, un compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, una composición farmacéutica que lo comprende o un agente de diagnóstico con el sujeto, célula, tejido, órgano o fluido biológico. En el contexto de una célula, la administración incluye el contacto (por ejemplo, in vitro o ex vivo) de un reactivo con la célula, así como el contacto de un reactivo
10 con un fluido, cuando el fluido está en contacto con la célula.

Por “cantidad terapéuticamente eficaz” se entiende la cantidad de un compuesto de la presente divulgación o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables que provocará la respuesta biológica deseada en un organismo humano. Puede variar en función del compuesto, la enfermedad y su gravedad, y la edad y el peso del sujeto por tratar. La cantidad
15 terapéuticamente eficaz puede determinarse midiendo los efectos fisiológicos relevantes, y puede ajustarse en relación con el régimen de dosificación y el análisis diagnóstico del estado del sujeto. A modo de ejemplo, la medición del nivel sérico de un compuesto de la presente divulgación (o, por ejemplo, un metabolito del mismo) en un momento determinado tras la administración puede ser indicativa de si se ha utilizado una cantidad terapéuticamente eficaz.

20 El término “tratamiento” se refiere a mejorar o estabilizar la enfermedad especificada, reducir o eliminar los síntomas de la enfermedad, ralentizar o eliminar la progresión de la enfermedad y prevenir o retrasar la reaparición de la enfermedad en un paciente o sujeto previamente afectado.

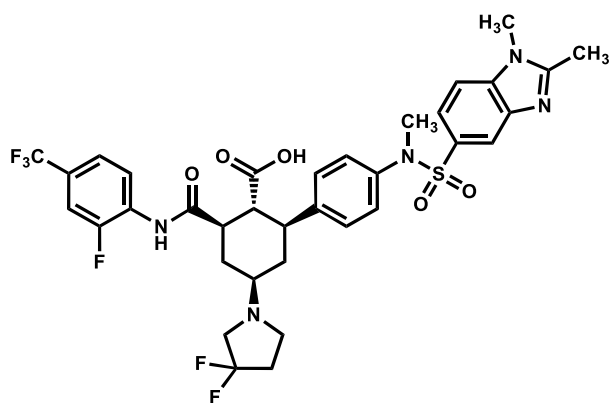
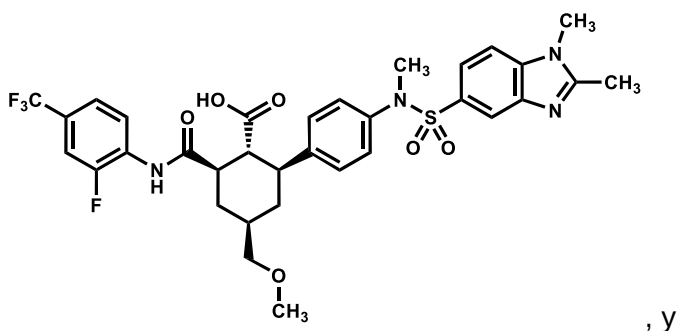
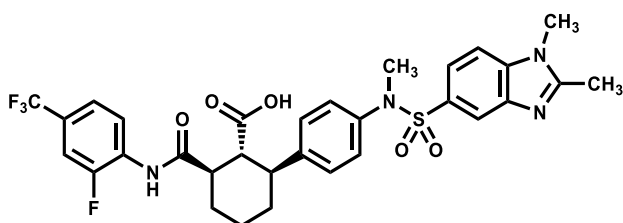
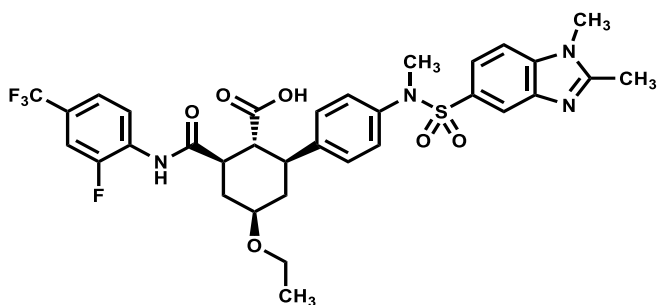
25 El término “prevención” se refiere a evitar la enfermedad declarada en un sujeto que no la padece.

“Inhibir”, “reducir”, o cualquier variación de estos términos en relación con el RNW, incluye cualquier disminución mensurable o inhibición completa para lograr un resultado deseado. Por ejemplo, puede haber una disminución de aproximadamente, a lo sumo aproximadamente, o al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %,
30 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 99 %, o más, o cualquier rango derivable de ello, reducción de la actividad del dominio helicasa del WRN en comparación con su actividad normal.

Compuestos

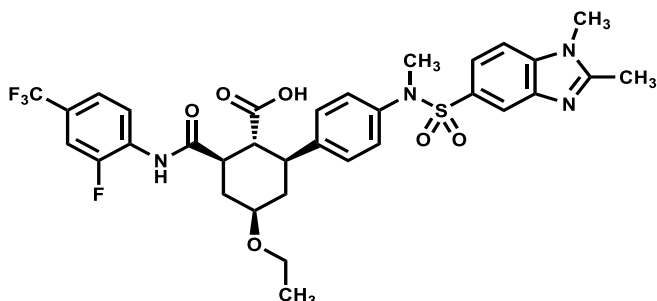
En un aspecto, el compuesto de la presente divulgación se selecciona entre los compuestos de la Tabla 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto seleccionado de los 5 grupos que consisten en:



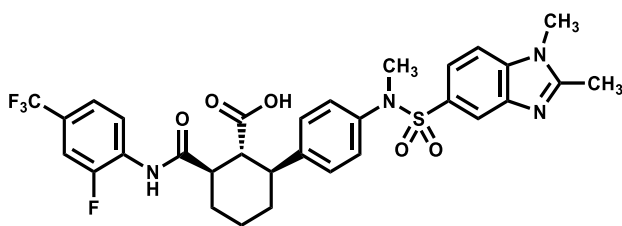
o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto que tiene la estructura:



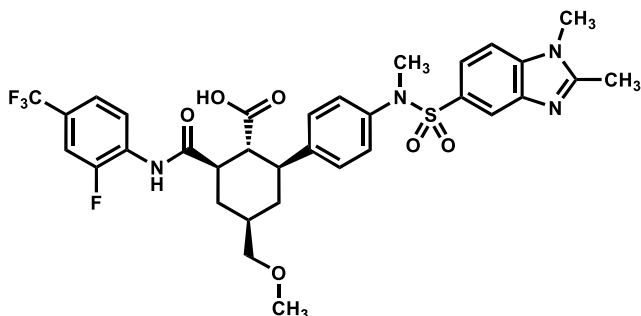
5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto que tiene la estructura:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

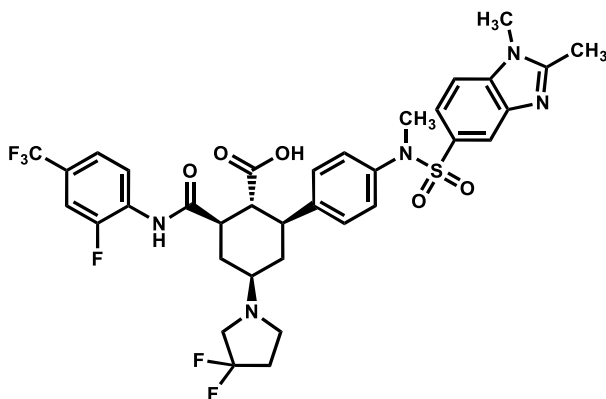
10 En una forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto que tiene la estructura:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una forma de realización, la presente divulgación proporciona un compuesto que

tiene la estructura:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los nombres químicos de la presente solicitud se generan a partir de las estructuras correspondientes utilizando CHEMDRAW o CHEMAXON. En algunos casos, los nombres químicos generados a partir de las estructuras pueden dar una estructura diferente cuando se utiliza la función “Convertir nombre en estructura” de CHEMDRAW. Por ejemplo, CHEMDRAW proporciona el nombre “(1R,2R,6S)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((N,1,2-trimetil-1H-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ácido ciclohexano-1-carboxílico” basado en la estructura para el compuesto del Ejemplo 83, en donde el nombre proporciona una estructura diferente cuando se utiliza la función “Convertir nombre en estructura” de CHEM DRAW. Un nombre alternativo, “ácido (1R,2R,6S)-2-[[2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil]carbamoil]-6-[4-(N-metil-1,2-dimetil-1H-1,3-benzodiazol-5-sulfonamido)fenil]ciclohexan-1-carboxílico” proporciona la estructura correcta del compuesto del ejemplo 83 en CHEMDRAW. Por lo tanto, cuando exista una posible ambigüedad, los compuestos de la presente solicitud deben determinarse por las estructuras.

La etiqueta “&” en las estructuras de la presente divulgación se refiere a que ambos centros quirales están presentes en la mezcla. Cuando se etiquetan varios centros con “&1” se determina la estereoquímica relativa entre ellos. El término “rac” en los nombres químicos denota una mezcla racémica.

La etiqueta “o” en las estructuras se refiere a que el centro quiral específico es un único isómero indefinido, pero no se determinó la estereoquímica absoluta. Cuando se etiquetan varios centros con “or1” se determina la estereoquímica relativa entre ellos pero no la estereoquímica absoluta. El término “rel” en los nombres químicos denota que se ha definido

la estereoquímica relativa pero no se ha determinado la absoluta.

A menos que se indique lo contrario, Isómero 1 se refiere al primer isómero que eluye e Isómero 2 se refiere al segundo isómero que eluye durante la separación cromatográfica quiral.

5 Tabla 1.

Ej. N.º	Estructura	Ej. N.º	Estructura
81		13 8	
83		25 0	
84		30 5	
13 7		30 6	

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para hacer un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención como se divulga en la presente e compuesto intermedio químico para hacer el compuesto.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende a) un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención según se divulga en la presente y b) un excipiente farmacéuticamente aceptable. El excipiente o excipientes deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los demás
5 ingredientes de la composición y no perjudiciales para el receptor de la misma.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención como se divulga en la presente, para su uso en terapia.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto o una de sus sales
10 farmacéuticamente aceptables de la invención como se divulga en la presente, para su uso en el tratamiento del cáncer.

En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por MSI-H y/o dMMR.

En una forma de realización, el cáncer es tratable mediante la inhibición de WRN.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar un cáncer
15 en un sujeto que lo necesita que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención como se divulga en la presente.

En otro aspecto, se proporciona un método para tratar un cáncer tratable mediante la inhibición del WRN en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad
20 terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En una forma de realización, el paciente tiene una necesidad reconocida de dicho tratamiento. En una forma de realización, el compuesto o una de sus sales farmacéuticamente aceptables de la invención tal como se divulga en la presente se administra en una composición farmacéutica.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar un cáncer
25 caracterizado por MSI-H y/o dMMR en un paciente que comprende administrar al paciente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención como se divulga en la presente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En una forma de realización, el paciente tiene una necesidad reconocida de dicho tratamiento. En una forma
30 de realización, el compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se administra en una composición farmacéutica.

En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por MSI-L o MSI-H según cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, un cáncer caracterizado por MSI-L o MSI-H puede comprender uno o más marcadores MSI (MSI-L), o preferentemente dos o más marcadores MSI (MSI-H), en cada caso seleccionados del grupo que consiste en BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, y D17S250. En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por dMMR y comprende una mutación que afecta a la reparación de los desajustes del ADN, preferentemente el cáncer comprende una mutación en un homólogo de MutS y/o una mutación en un homólogo de MutL. En una subrealización, el homólogo MutS se selecciona del grupo que consiste en MSH2, MSH3, y MSH6, y el homólogo MutL se selecciona del grupo que consiste en MLH1, MLH3, PMS1, y PMS2, preferentemente una mutación en MLH1, MSH2, y/o PMS2.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención como se divulga en la presente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de la invención como se divulga en la presente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento del cáncer tratable mediante la inhibición del WRN.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un compuesto de la invención tal como se divulga en la presente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en el tratamiento del cáncer caracterizado por una elevada MSI y/o dMMR en un paciente. En una forma de realización, el paciente tiene una necesidad reconocida de dicho tratamiento. En una forma de realización, el compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se administra en una composición farmacéutica. En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por MSI-L o MSI-H según cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, un cáncer caracterizado por MSI-L o MSI-H puede comprender uno o más marcadores MSI (MSI-L), o preferentemente dos o más marcadores MSI (MSI-H), en cada caso seleccionados del grupo que consiste en BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, y D17S250. En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por dMMR y comprende una mutación que afecta a la reparación de los desajustes del ADN, preferentemente el cáncer comprende una mutación en un homólogo de MutS y/o una mutación en un homólogo de MutL. En una forma de realización, el homólogo MutS se selecciona del grupo que consiste en MSH2, MSH3, y MSH6, y el homólogo MutL se selecciona del grupo que consiste en MLH1, MLH3, PMS1, y PMS2, preferentemente una mutación en MLH1, MSH2, y/o PMS2.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar un cáncer en un paciente, que comprende:

(i) determinar si el cáncer comprende MSI y/o dMMR elevados; y

5 (ii) si el cáncer comprende alta MSI y/o dMMR, entonces administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención como se divulga en la presente o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una forma de realización, se proporciona en la presente un compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, eficaz para disminuir la actividad helicasa de WRN para su uso en un método de tratamiento de un individuo con
10 una enfermedad proliferativa, comprendiendo el método determinar la presencia de una inestabilidad de microsatélites baja (MSI-L) o, preferentemente, una inestabilidad de microsatélites alta (MSI-H), o un marcador asociado con una MSI-L o una MSI-H, en una población de células proliferativas del individuo, determinar una probabilidad de que el individuo responda a una terapia que comprende administrar al individuo dicho compuesto de
15 la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, basándose en la determinación de la presencia de MSI-L o MSI-H, respectivamente, o un marcador asociado con MSI-L o MSI-H, respectivamente, en la población de células proliferativas, y administrar al individuo dicho compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, si se predice que el individuo responderá a la terapia. En
20 algunas formas de realización, la determinación de la presencia de MSI-L o MSI-H en la población de células proliferativas comprende determinar la presencia de uno o más marcadores MSI (MSI-L), preferentemente dos o más marcadores MSI (MSI-H), en cada caso seleccionados del grupo que consiste en BAT25, BAT26, D2S123, D5S346, y D17S250. En algunas formas de realización, se predice que el individuo responde a la terapia si la
25 cantidad de células en la población de células proliferativas que se ha determinado que tienen al menos uno de los marcadores MSI (MSI-L), o preferentemente al menos dos de los marcadores MSI (MSI-H), respectivamente, está por encima de un umbral predeterminado para la enfermedad proliferativa. En algunas formas de realización, se predice que el individuo no responderá a la terapia si (a) la cantidad de células en la población de células proliferativas
30 que se determina que tienen al menos uno de los marcadores MSI (MSI-L), o preferentemente al menos dos de los marcadores MSI (MSI-H), respectivamente, está por debajo de un umbral predeterminado para la enfermedad proliferativa; o (b) se determina que la población de células proliferativas no tiene ninguno de los marcadores MSI (por ejemplo, se considera

estable al microsatélite (MSS)).

En una forma de realización, según cualquiera de las formas de realización descritas con anterioridad, la determinación de la presencia de un marcador asociado con MSI-H en la población de células proliferativas comprende determinar la presencia de una mutación que
5 deteriora la reparación de los errores de emparejamiento del ADN. En algunas formas de realización, la mutación comprende una mutación en un homólogo de MutS y/o una mutación en un homólogo de MutL. En algunas formas de realización, el homólogo MutS se selecciona del grupo que consiste en MSH2, MSH3 y MSH6, y el homólogo MutL se selecciona del grupo que consiste en MLH1, MLH3, PMS1 y PMS2. En algunas formas de realización, la mutación
10 comprende una mutación en MLH1, MSH2 y/o PMS2.

En algunas formas de realización, según cualquiera de las formas de realización descritas anteriormente, la determinación de la presencia de un marcador asociado con MSI-H en la población de células proliferativas comprende determinar la presencia de uno o más marcadores de daño en el ADN. En algunas formas de realización, el uno o más marcadores
15 de daño del ADN se seleccionan del grupo que consiste en alta expresión de p21 y alta expresión de γH2AX.

En algunas formas de realización, según cualquiera de las formas de realización descritas anteriormente, se predice que el individuo responderá a la terapia si la cantidad de células en la población de células proliferativas que se ha determinado que tienen (i) al menos
20 una mutación que afecta a la reparación de los errores de emparejamiento del ADN y/o (ii) al menos un marcador de daño en el ADN está por encima de un umbral predeterminado para la enfermedad proliferativa. En algunas formas de realización, la al menos una mutación que afecta a la reparación de los desajustes del ADN comprende una mutación en MLH1, MSH2 y/o PMS2, y el al menos un marcador de daño en el ADN comprende una expresión elevada
25 de p21 y/o una expresión elevada de γH2AX.

En algunas formas de realización, según cualquiera de las formas de realización descritas anteriormente, se predice que el individuo no responderá a la terapia si (a) se determina que la cantidad de células en la población de células proliferativas que tienen (i) al menos una mutación que deteriora la reparación de los errores de emparejamiento del ADN
30 y/o (ii) al menos un marcador de daño en el ADN está por debajo de un umbral predeterminado para la enfermedad proliferativa; o (b) se determina que la población de células proliferativas no tiene mutaciones que deterioren la reparación de los errores de emparejamiento del ADN ni marcadores de daño en el ADN.

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método in vitro para detectar una alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y la actividad de helicasa del WRN en un individuo diagnosticado o que se cree que tiene una enfermedad proliferativa, el método comprende: (a) poner en contacto una muestra biológica del individuo con uno o más reactivos para detectar la presencia de una MSI y la actividad de helicasa del WRN; y (b) detectar (i) la presencia de una MSI-H; y (ii) la actividad de helicasa del WRN. En algunas formas de realización, el reactivo para detectar la presencia de un MSI-H en una muestra biológica comprende un reactivo para detectar la presencia de dos o más marcadores MSI seleccionados del grupo que consiste en BAT25, BAT26, D2S123, D5S346 y D17S250.

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método in vitro para detectar un marcador asociado con una alta inestabilidad de microsatélites (MSI-H) y la actividad de helicasa de WRN en un individuo diagnosticado o que se cree que tiene una enfermedad proliferativa, el método comprende: (a) poner en contacto una muestra biológica del individuo con uno o más reactivos para detectar la presencia de un marcador asociado con una MSI-H y la actividad helicasa de la helicasa de WRN; y (b) detectar (i) la presencia del marcador asociado con una MSI-H; y (ii) la actividad helicasa de la helicasa de WRN. En algunas formas de realización, el reactivo para detectar la presencia de un marcador asociado con un MSI-H en una muestra biológica comprende un reactivo para detectar la presencia de (i) una o más mutaciones que alteran la reparación de los errores de emparejamiento del ADN y/o (ii) uno o más marcadores de daño en el ADN. En algunas formas de realización, la una o más mutaciones que alteran la reparación de los desajustes del ADN comprenden una mutación en un homólogo de MutS y/o una mutación en un homólogo de MutL. En algunas formas de realización, el homólogo de MutS se selecciona del grupo que consiste en MSH2, MSH3 y MSH6, y el homólogo de MutL se selecciona del grupo que consiste en MLH1, MLH3, PMS1 y PMS2. En algunas formas de realización, la una o más mutaciones comprenden una mutación en MLH1, MSH2, y/o PMS2. En algunas formas de realización, el uno o más marcadores de daño en el ADN se seleccionan del grupo que consiste en una expresión elevada de p21 y una expresión elevada de γH2AX.

En un enfoque para esta forma de realización, el cáncer puede caracterizarse por MSI-H según cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, un cáncer caracterizado por MSI-H puede comprender dos o más marcadores MSI seleccionados del grupo que consiste en BAT25, BAT26, D2S123, D5S346 y D17S250. En una forma de realización, el cáncer se caracteriza por dMMR y comprende una mutación que afecta a la reparación de los desajustes del ADN, preferentemente el cáncer comprende una mutación en un homólogo de MutS y/o

una mutación en un homólogo de MutL. En una forma de realización, el homólogo MutS se selecciona del grupo que consiste en MSH2, MSH3 y MSH6, y el homólogo MutL se selecciona del grupo que consiste en MLH1, MLH3, PMS1 y PMS2, preferentemente una mutación en MLH1, MSH2 y/o PMS2. En una forma de realización, el cáncer comprende dos o más marcadores de daño en el ADN.

En una forma de realización, el cáncer es cáncer de endometrio, cáncer biliar, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, cáncer de intestino delgado, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de esófago, sarcoma, adenocarcinoma retroperitoneal, cáncer de pulmón pequeño o cáncer de células renales. Preferentemente, el cáncer es carcinoma de endometrio de cuerpo uterino, adenocarcinoma de estómago, adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma de recto, adenocarcinoma de próstata, carcinoma de corteza suprarrenal, carcinoma de esófago, carcinoma hepatocelular de hígado, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de pulmón, carcinoma renal de células claras, carcinoma papilar de riñón, cáncer de páncreas, cáncer urotelial de vejiga, cáncer de ovario, cáncer de mama, glioblastoma multiforme o glioma de bajo grado (véase Isidro Cortes–Ciriano et. al. Nature Communication DOI: 10.1038/ncomms15180).

En otro aspecto, se proporciona en la presente un método para identificar la actividad inhibidora de la helicasa WRN en un compuesto de ensayo de la helicasa WRN, dicho método comprende (i) poner en contacto el compuesto de ensayo con la enzima WRN aislada en un tampón de ensayo para formar una premezcla de reacción WRN; (ii) poner en contacto la premezcla de reacción WRN con una mezcla de sustrato que contiene 80 uM de ATP, 80 nM de dT50 (ADN monocatenario (ssADN) que contiene 50 bases de timina), 200 uM de NADH, 4 mM de PEP, 10 U/mL de lactato deshidrogenasa y 20 U/mL de piruvato quinasa para formar una mezcla de reacción WRN; y (iii) medir la absorbancia ($\lambda = 340 \text{ nm}$) de la mezcla de reacción WRN, en donde dicho método comprende además realizar los pasos (i)–(iii) con una muestra de control positivo representada por un compuesto de la presente divulgación.

Composición farmacéutica

Los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, proporcionados en la presente pueden estar en forma de composiciones adecuadas para su administración a un sujeto. En general, dichas composiciones son composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y uno o más excipientes farmacéuticamente

aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden usarse en los métodos descritos en la presente; así, por ejemplo, las composiciones farmacéuticas pueden administrarse ex vivo o in vivo a un sujeto para practicar los métodos y usos terapéuticos descritos en la presente.

Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para que sean compatibles con el método o la vía de administración previstos; en la presente se exponen vías de administración ejemplares. Además, las composiciones farmacéuticas pueden utilizarse en combinación con otros agentes o compuestos terapéuticamente activos descritos en la presente para tratar las enfermedades, trastornos y afecciones contemplados en la presente divulgación.

Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo (por ejemplo, un compuesto de la presente divulgación, una una de sus sales farmacéuticamente aceptables) pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, cápsulas, troqueles, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes, soluciones, microesferas o elixires. Las composiciones farmacéuticas destinadas al uso oral pueden prepararse según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas, y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes como, por ejemplo, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y palatables. Los comprimidos y/o cápsulas contienen el principio activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos y/o cápsulas. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes, como carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes granulantes y desintegrantes, como almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, como almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas comprenden típicamente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen, pero sin limitación, antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico y bisulfato sódico), conservantes (por ejemplo, alcohol bencílico, metil-, etil- o n-propilparabenos, p-hidroxibenzoato), agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes dispersantes, disolventes, cargas, agentes de carga, detergentes, tampones, vehículos, diluyentes y/o adyuvantes. Por ejemplo, un

vehículo adecuado puede ser una solución salina fisiológica o una solución salina tamponada con citrato, posiblemente complementada con otros materiales comunes en composiciones farmacéuticas para administración parenteral. La solución salina tamponada neutra o la solución salina mezclada con albúmina de suero son otros vehículos ejemplares. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente una variedad de tampones que pueden utilizarse en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación contempladas en la presente. Los tampones típicos incluyen, entre otros, ácidos débiles farmacéuticamente aceptables, bases débiles o mezclas de los mismos. A modo de ejemplo, los componentes amortiguadores pueden ser materiales solubles en agua como ácido fosfórico, ácidos tartáricos, ácido láctico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido aspártico, ácido glutámico y sales de los mismos. Los agentes tamponadores aceptables incluyen, por ejemplo, un tampón Tris, ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-(2-etanosulfónico) (HEPES), ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), sal sódica del ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES), ácido 3-(N-morfolino)propansulfónico (MOPS) y ácido N-tris[hidroximetil]metil-3-aminopropanosulfónico (TAPS).

Todos los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente pueden utilizarse en todos los métodos previstos en el mismo. Por ejemplo, los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente pueden utilizarse en todos los métodos para el tratamiento y/o prevención de todas las enfermedades o trastornos proporcionados en la presente. Por lo tanto, los compuestos y composiciones farmacéuticas proporcionados en la presente son para su uso como un medicamento.

Vías de administración

Los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y las composiciones que los contengan pueden administrarse de cualquier forma adecuada. Las vías de administración adecuadas incluyen la oral, parenteral (p. ej., intramuscular, intravenosa, subcutánea (por ejemplo, inyección o implante), intraperitoneal, intracisternal, intraarticular, intracerebral (intraparenquimatosa) e intracerebroventricular), sublingual, intraocular y por inhalación. Las inyecciones de depósito, que generalmente se administran por vía subcutánea o intramuscular, también pueden utilizarse para administrar los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables durante un periodo de tiempo definido. Algunas formas de realización particulares de la presente divulgación contemplan la administración oral.

Tratamiento de pacientes con tumores caracterizados por una alta inestabilidad de

microsatélites

En un aspecto, se proporciona en la presente un método para disminuir la proliferación en una célula proliferativa que tiene una inestabilidad de microsatélites (MSI), que comprende disminuir la actividad helicasa de la helicasa dependiente de ATP del síndrome de Werner (WRN) en la célula proliferativa. En algunas formas de realización, la disminución de la actividad helicasa de la helicasa dependiente de ATP (WRN) del síndrome de Werner en la célula proliferativa se consigue administrando un compuesto de la presente divulgación o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, la célula proliferativa se caracteriza por tener MSI bajo (MSI-L). En algunas formas de realización, la célula proliferativa se caracteriza por tener MSI alto (MSI-H), utilizado indistintamente con MSH-alto. Las células pueden caracterizarse como MSI, incluyendo MSI-L o MSI-H, o como microsatélite estable (MSS), según cualquier método conocido en la técnica (véase, por ejemplo, Dudley, Jonathan C., et al., *Clinical Cancer Research*, 22(4): 813-820, 2016.). MSI-H se utiliza para clasificar tumores como de alta frecuencia de MSI. Un tumor se puede clasificar como MSI, incluyendo MSI-bajo o MSI-alto, utilizando ensayos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y/o inmunohistoquímica (IHC). Como se indica en Dudley et al. (supra), un tumor se clasifica como MSI-H mediante PCR si (i) hay un desplazamiento (normalmente hacia abajo) en el tamaño de al menos dos loci microsatélite de un panel de referencia de cinco loci microsatélite en el tumor en relación con el normal, en donde el panel de referencia puede ser el "Panel Bethesda", también denominado en la presente "Panel de Referencia del NCI (Bethesda, 1998)", que incluye dos loci mononucleotídicos (BAT-25 y BAT-26) y tres loci dinucleotídicos (D2S123, D5S346 y D17S250), o alternativamente, el panel de referencia puede ser el Sistema de Análisis MSI de Promega Corporation, que incluye cinco loci mononucleotídicos (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y MONO-27); o (ii) hay un cambio en el tamaño del 30 % o más de los loci microsatélites de un panel de referencia de más de cinco loci microsatélites en el tumor en relación con el normal. El fenotipo MSI-H se asocia a defectos de la línea germinal en los genes de reparación de emparejamientos erróneos MLH1, MSH2, MSH6 y PMS2, y es el fenotipo primario observado en tumores de pacientes con síndrome HNPCC/Lynch. Un tumor se clasifica como MSI-H en la prueba IHC si muestra una pérdida de expresión proteica para al menos 1 de los 4 genes de reparación de emparejamientos erróneos mencionados. Las células pueden clasificarse de forma similar como MSI-H utilizando las pruebas descritas en la presente para los tumores.

En algunas formas de realización, un tumor o célula se clasifica como MSI-H utilizando PCR para amplificar los cinco loci microsatélite del "Panel Bethesda" (BAT-25, BAT-26,

D2S123, D5S346 y D17S250) tanto de tejido o células tumorales como de tejido o células normales, en las que el tumor o célula se clasifica como MSI-H si hay un cambio en el tamaño de al menos dos de los loci microsatélite del tejido o células tumorales en relación con el tejido o células normales. En algunas formas de realización, el cambio de tamaño de los loci microsatélite es un cambio descendente.

En algunas formas de realización, un tumor o célula se clasifica como MSI-H utilizando PCR para amplificar los cinco loci microsatélite del sistema de análisis MSI de Promega Corporation (BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y MONO-27) tanto del tejido o células tumorales como del tejido o células normales, en las que el tumor o célula se clasifica como MSI-H si hay un cambio en el tamaño de al menos dos de los loci microsatélite del tejido o células tumorales en relación con el tejido o células normales. En algunas formas de realización, el cambio de tamaño de los loci microsatélite es un cambio descendente.

En algunas formas de realización, un tumor se clasifica como MSI-H utilizando IHC para determinar el nivel de expresión de las proteínas MMR MLH1, MSH2, MSH6, y/o PMS2 tanto en el tejido tumoral como en el tejido normal, en el que el tumor se clasifica como MSI-H si hay una pérdida de expresión de proteína para al menos una de las proteínas MMR en el tejido tumoral en relación con el tejido normal. En algunas formas de realización, la pérdida de expresión proteica es una disminución de al menos el 20 % (tal como una disminución del 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o más).

Por el contrario, un tumor se clasifica como MSI-L por PCR si (i) hay un cambio en el tamaño de un locus microsatélite de un panel de referencia de cinco loci microsatélites en el tumor en relación con lo normal, en donde el panel de referencia puede ser el "Panel Bethesda" o el Sistema de Análisis MSI de Promega Corporation; o (ii) hay un cambio en el tamaño de menos del 30 % de loci microsatélites de un panel de referencia de más de cinco loci microsatélites en el tumor en relación con lo normal. Se cree que los tumores MSI-L representan un fenotipo mutador distinto con una etiología molecular potencialmente diferente a la de los tumores MSI-H (Thibodeau, 1998; Wu et al., 1999, Am J Hum Genetics 65:1291-1298). Las células pueden clasificarse de forma similar como MSI-L utilizando las pruebas descritas aquí para los tumores.

Terapia combinada

La presente divulgación contempla el uso de compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en combinación con uno o más agentes

terapéuticos activos (por ejemplo, agentes quimioterapéuticos) u otras modalidades profilácticas o terapéuticas (por ejemplo, radiación). En dicha terapia combinada, los distintos agentes activos suelen tener mecanismos de acción diferentes y complementarios. Dicha terapia combinada puede ser especialmente ventajosa al permitir una reducción de la dosis de uno o más de los agentes, reduciendo o eliminando así los efectos adversos asociados a uno o más de los agentes. Además, dicha terapia combinada puede tener un efecto terapéutico o profiláctico sinérgico sobre la enfermedad, trastorno o afección subyacente.

Tal como se utiliza en la presente, el término “combinación” incluye terapias que pueden administrarse por separado, por ejemplo, formuladas por separado para su administración por separado (p. ej., como puede proporcionarse en un kit), y terapias que pueden administrarse juntas en una única formulación (es decir, una “coformulación”).

En determinadas formas de realización, los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran o aplican secuencialmente, por ejemplo, cuando un agente se administra antes de uno o más agentes. En otras formas de realización, los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran simultáneamente, por ejemplo, cuando dos o más agentes se administran al mismo tiempo o aproximadamente al mismo tiempo; los dos o más agentes pueden estar presentes en dos o más formulaciones separadas o combinadas en una única formulación (es decir, una coformulación). Independientemente de si los dos o más agentes se administran secuencial o simultáneamente, se considera que se administran en combinación a efectos de la presente divulgación.

La presente divulgación proporciona métodos para tratar el cáncer con un compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y al menos un agente terapéutico o de diagnóstico adicional.

En algunas formas de realización, el compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se administra en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, seleccionado entre Temozolomida, Pemetrexed, Doxorubicina liposomal pegilada (Doxil), Eribulina (Halaven), Ixabepilona (Ixempra), Paclitaxel unido a proteínas (Abraxane), Oxaliplatino, Irinotecán, Venatoclax (inhibidor de bcl2), 5-azacitadina, Terapéuticos anti-CD20, como Rituxan y obinutuzumab, Agentes hormonales (anastrozol, exemestand, letrozol, zoladex, lupon eligard), Inhibidores CDK4/6, Palbociclib, Abemaciclib, IPC (Avelumab, Cemiplimab-rwlc, y Bevacizumab).

En determinadas formas de realización, la presente divulgación proporciona métodos para tratar el cáncer que comprenden la administración de un compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descrita en la presente en combinación con un inhibidor de la transducción de señales (ITS) para lograr la supresión
5 aditiva o sinérgica del crecimiento tumoral. Como se utiliza en la presente, el término “inhibidor de la transducción de señales” se refiere a un agente que inhibe selectivamente uno o más pasos en una vía de señalización. Los ejemplos de inhibidores de la transducción de señales (ITS) útiles en los métodos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a: (i) inhibidores de la quinasa bcr/abl (por ejemplo, GLEEVEC); (ii) inhibidores del receptor del
10 factor de crecimiento epidérmico (EGF), incluidos inhibidores de la quinasa y anticuerpos; (iii) inhibidores del receptor her-2/neu (por ejemplo, HERCEPTINA); (iv) inhibidores de las quinasas de la familia Akt o de la vía Akt (por ejemplo, rapamicina); (v) inhibidores de la quinasa del ciclo celular (por ejemplo, flavopiridol); e (vi) inhibidores de la fosfatidil inositol quinasa. Los agentes implicados en la inmunomodulación también pueden utilizarse en
15 combinación con uno o más compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descrita en la presente para la supresión del crecimiento tumoral en pacientes con cáncer.

En determinadas formas de realización, la presente divulgación proporciona métodos para tratar el cáncer que comprenden la administración de un compuesto de la presente
20 divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descrita en la presente en combinación con un agente quimioterapéutico. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, pero no se limitan a agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclosfosfamida; alquil sulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, como la altretamina, la
25 trietilenemelamina, la trietilenfosforamida, la trietilentiofosforamida y la trimetilolomelamina; mostazas nitrogenadas como el chiorambucil, la clorafanfazina, la colofosfamida, la estramustina, la ifosfamida, la mecloretamina, el clorhidrato de óxido de mecloretamina, el melfalán, la novembichina, la fenesterina, la prednimustina, la trofosfamida, la mostaza uracilo; nitrosureas como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina,
30 ranimustina; antibióticos como aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, calicheamicina, carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina,
35 quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex,

zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos como el metotrexato y el 5-fluorouracilo (5-FU);
análogos del ácido fólico como la denopterina, el metotrexato, la pteropterina, el trimetrexato;
análogos de las purinas como la fludarabina, la 6-mercaptopurina, la tiamiprina, la tioguanina;
análogos de la pirimidina como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina,
5 dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU; andrógenos como calusterona,
propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenales como
aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedores de ácido fólico como ácido frolínico;
aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; amsacrina; bestrabucil;
bisantrén; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elformitina; acetato de eliptinio;
10 etoglucid; nitrato de galio; hidroxiaurea; lentinano; lonidamina; mitoguazona; mitoxantrona;
mopidamol; nitracrina; pentostatina; phenamet; pirarubicina; ácido podofilínico; 2-
etilhidrazida; procarbazona; razoxano; sizofiran; espirogermanio; ácido tenuazónico;
triaziquona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina;
mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido (Ara-C); ciclofosfamida; tiotepa;
15 taxoides, p. ej. g., paclitaxel y doxetaxel; clorambucil; gemcitabina; 6-tioguanina;
mercaptopurina; metotrexato; platino y complejos de coordinación de platino como cisplatino
y carboplatino; vinblastina; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitomicina C; mitoxantrona;
vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrona; tenipósido; daunomicina; aminopterina; xeloda;
ibandronato; CPT11; inhibidores de la topoisomerasa; difluorometilornitina (DMFO); ácido
20 retinoico; esperamicinas; capecitabina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente
aceptables de cualquiera de los anteriores. En una forma de realización particular, los
compuestos de la presente divulgación se coadministran con un compuesto citostático
seleccionado del grupo que consiste en cisplatino, doxorubicina, taxol, taxotere y mitomicina
C. En una forma de realización particular, el compuesto citostático es doxorubicina.

25 Los agentes quimioterapéuticos también incluyen agentes antihormonales que actúan
para regular o inhibir la acción hormonal sobre los tumores, como los antiestrógenos, entre
los que se incluyen, por ejemplo, el tamoxifeno, el raloxifeno, los 4(5)-imidazoles inhibidores
de la aromatasas, el 4-hidroxitamoxifeno, el trioxifeno, el keoxifeno, la onapristona y el
toremifeno; y antiandrógenos como flutamida, nilutamida, bicalutamida, enzalutamida,
30 apalutamida, acetato de abiraterona, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados
farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. En determinadas formas de
realización, la terapia combinada comprende la administración de una hormona o agente
hormonal relacionado.

La presente divulgación también contempla el uso de los compuestos de la presente

divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en la presente en combinación con inhibidores de puntos de control inmunitarios. El enorme número de alteraciones genéticas y epigenéticas características de todos los cánceres proporciona un conjunto diverso de antígenos que el sistema inmunitario puede utilizar para distinguir las células tumorales de sus homólogas normales. En el caso de las células T, la amplitud final (por ejemplo, los niveles de producción o proliferación de citoquinas) y la calidad (por ejemplo, el tipo de respuesta inmunitaria generada, como el patrón de producción de citoquinas) de la respuesta, que se inicia mediante el reconocimiento de antígenos por el receptor de células T (TCR), están reguladas por un equilibrio entre señales coestimuladoras e inhibitoras (puntos de control inmunitario). En condiciones fisiológicas normales, los puntos de control inmunitarios son cruciales para la prevención de la autoinmunidad (es decir, el mantenimiento de la autotolerancia) y también para la protección de los tejidos frente a daños cuando el sistema inmunitario responde a una infección patógena. Los tumores pueden desregular la expresión de las proteínas de los puntos de control inmunitarios como un importante mecanismo de resistencia inmunitaria. Algunos ejemplos de inhibidores de puntos de control inmunitarios son, entre otros, CTLA-4, PD-1, PD-L1, BTLA, TIM3, LAG3, OX40, 41BB, VISTA, CD96, TGF β , CD73, CD39, A2AR, A2BR, IDO1, TDO2, arginasa, B7-H3, B7-H4. También se contemplan los moduladores celulares de la inmunidad anticáncer. Ejemplos de tales moduladores incluyen, pero no se limitan a, células T receptoras de antígenos quiméricos, células T infiltrantes de tumores y células dendríticas.

La presente divulgación contempla el uso de compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en la presente en combinación con inhibidores de los receptores y ligandos de punto de control inmunitario antes mencionados, por ejemplo, ipilimumab, abatacept, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, dostarlimab y durvalumab.

Otras modalidades de tratamiento que pueden usarse en combinación con un compuesto de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descrita en la presente incluyen radioterapia, un anticuerpo monoclonal contra un antígeno tumoral, un complejo de un anticuerpo monoclonal y una toxina, un adyuvante de células T, trasplante de médula ósea o células presentadoras de antígenos (por ejemplo, terapia con células dendríticas).

La presente divulgación contempla el uso de compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en la presente para el tratamiento

del glioblastoma, ya sea solos o en combinación con radiación y/o temozolomida (TMZ), avastina o lomustina.

Dosificación

Los compuestos de la presente divulgación, o una de sus sales farmacéuticamente
5 aceptables que se proporcionan en la presente, pueden administrarse a un sujeto en una
cantidad que dependa, por ejemplo, del objetivo de la administración (por ejemplo, el grado
de resolución deseado); la edad, el peso, el sexo y el estado de salud y físico del sujeto al que
se administra la formulación; la vía de administración; y la naturaleza de la enfermedad, el
trastorno, la afección o el síntoma del mismo. El régimen de dosificación también puede tener
10 en cuenta la existencia, la naturaleza y el alcance de los efectos adversos asociados al agente
o agentes administrados.

Una dosis eficaz (DE) es la dosis o cantidad de un agente que produce una respuesta
terapéutica o un efecto deseado en alguna fracción de los sujetos que la toman. La “dosis
media eficaz” o ED₅₀ de un agente es la dosis o cantidad de un agente que produce una
15 respuesta terapéutica o un efecto deseado en el 50 % de la población a la que se administra.
Aunque la ED₅₀ se utiliza habitualmente como medida de expectativa razonable del efecto de
un agente, no es necesariamente la dosis que un clínico podría considerar apropiada teniendo
en cuenta todos los factores relevantes. Así, en algunas situaciones la cantidad eficaz es
superior a la ED₅₀ calculada, en otras situaciones la cantidad eficaz es inferior a la ED₅₀
20 calculada y en otras situaciones la cantidad eficaz es igual a la ED₅₀ calculada.

EJEMPLOS

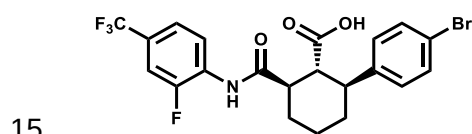
Los siguientes ejemplos y referencias (compuestos intermedios) se exponen con el fin de
proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo
realizar y utilizar la presente divulgación, y no pretenden limitar el alcance de lo que los
25 inventores consideran su divulgación, ni pretenden representar que los experimentos que se
exponen a continuación se realizaron o que son todos los experimentos que pueden
realizarse. Debe entenderse que las descripciones ejemplares escritas en presente no se han
realizado necesariamente, sino que las descripciones pueden realizarse para generar datos
de la naturaleza descrita en ellas. Se han realizado esfuerzos para garantizar la exactitud con
30 respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero deben
tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Algunos datos de RMN se
procesaron mediante análisis informático y pueden contener artefactos inherentes a ese

proceso, incluida la notificación de picos de impurezas, picos de disolventes y errores de integración.

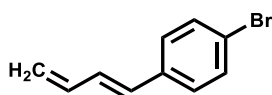
El rendimiento másico de una reacción descrita en la presente es la cantidad de material recogido de la reacción, pero la cantidad en mmol y el % de rendimiento se ajustan para reflejar la pureza del material. Por ejemplo, si de una reacción se recogen 10 gramos de un producto (que corresponden a 20 mmol si es 100 % puro) pero se determina que la pureza del producto es 90 %, la preparación se reportará como “(10 gramos, 18 mmol, 54 % de rendimiento)”. Sin embargo, cuando el producto se utiliza como material de partida en un paso posterior, a efectos del cálculo de la estequiometría, el producto se considerará puro al 100 %. Por ejemplo, el producto de 10 gramos se describirá como material de partida de “10 gramos, 20 mmol” en una reacción posterior.

Compuestos intermedios

Compuesto intermedio 1: ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico



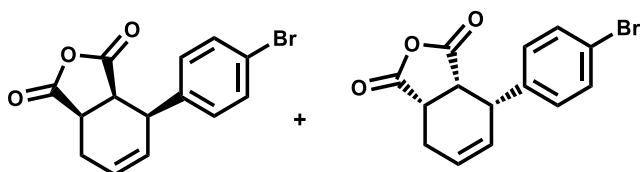
Paso 1: (*E*)-1-bromo-4-(buta-1,3-dien-1-il)benceno



En dos reacciones equivalentes separadas: a una mezcla de alilfosfonato de dietilo (144 g, 811 mmol) en THF (3000 mL) a 0 °C se añadió NaH (32,4 g, 811 mmol). Después de 50 min, se añadió 4-bromobenzaldehído (0,100 kg, 0,540 mol) y las mezclas se dejaron calentar hasta 25 °C durante 4 h. Las dos reacciones separadas se combinaron, se enfriaron hasta 0 °C, se neutralizaron con NH₄Cl acuoso (500 mL) y se extrajeron con EtOAc (500 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se extrajo en éter de petróleo (500 mL) y 300 g de gel de sílice (gel de sílice de malla 100–200) se añadieron. La mezcla resultante se concentró a 40 °C y para dar un sólido de flujo seco y se cargó en Biotage usando 1,500 g de gel de sílice (cromatografía en columna autopreparada, gel de sílice de malla 100–200), eluyendo con 0–10 % de acetato de etilo en éter de petróleo para dar (*E*)-1-bromo-4-(buta-

1,3-dien-1-il)benceno (90 g, 410 mmol, 38 % de rendimiento) en forma de un aceite amarillo. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,43 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,25 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,76 (dd, $J = 15,6$ Hz, 10,4 Hz, 1H), 6,53 – 6,44 (m, 2H), 5,36 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 5,21 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H).

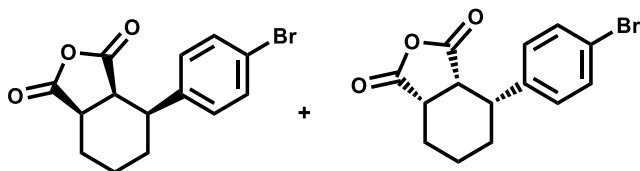
5 Paso 2: mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona



10 En dos reacciones equivalentes separadas: a una mezcla de (*E*)-1-bromo-4-(buta-1,3-dien-1-il)benceno (140 g, 670 mmol) en tolueno (1400 mL) a 25 °C se añadió furan-2,5-diona (65,7 g, 0,670 mol). Las mezclas se añadieron a 120 °C durante 12 h. Las dos reacciones se combinaron, se concentraron, se trituraron con 2:1 *n*-hexano:acetato de etilo a 20 °C durante 30 min, se filtraron y se lavaron con *n*-hexano (200 mL X 3) para dar una mezcla

15 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona (189 g, 599 mmol, 44,5 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,52 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,21 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,22 (m, 1H), 6,17 – 6,15 (m, 1H), 3,83 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 3,77 – 3,72 (m, 2H), 2,66 – 2,60 (m, 1H), 2,50 – 2,40 (m, 1H).

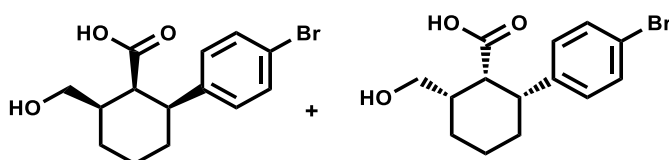
20 Paso 3: mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona



25 En tres reacciones equivalentes separadas: a una mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona (63,0 g, 205 mmol) en THF (1000 mL) a 25 °C bajo nitrógeno se añadió platino (8,00 g, 2,05 mmol). Las mezclas se colocaron bajo atmósfera de hidrógeno (2 atm). Las reacciones se desgasificaron por evacuación al

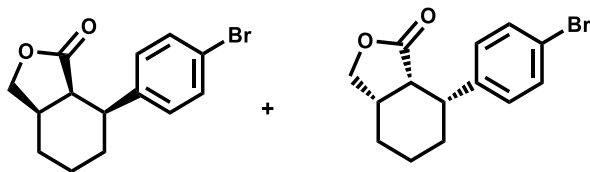
vacío, luego se rellenaron con hidrógeno (3X). Las mezclas se añadieron a 25 °C durante 40 min bajo hidrógeno. Las tres reacciones se combinaron, se filtraron y la torta filtrante se lavó con THF (1 L x 3). Los filtrados combinados se concentraron, se trituraron con 5:1 *n*-hexano:acetato de etilo (500 mL) a 20 °C durante 30 min, se filtraron, se lavaron con *n*-hexano (100 mL x3) y se secaron a presión reducida a 40 °C para proporcionar una mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona (164 g, 477 mmol, 78 %) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,25 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,99 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,35 – 3,29 (m, 1H), 3,16 – 3,10 (m, 1H), 2,09 – 2,04 (m, 1H), 1,91 – 1,86 (m, 1H), 1,81 – 1,76 (m, 1H), 1,67 – 1,44 (m, 3H).

Paso 4: mezcla 1:1 de ácido (3aS,4S,7aR)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y (3aR,4R,7aS)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico



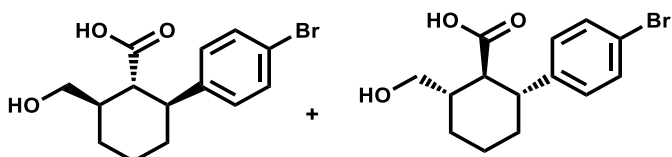
A una mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1,3-diona (164 g, 0,530 mol) en THF (1500 mL) a 0 °C se añadió NaBH₄ (40,1 g, 1,06 mol), en porciones. La reacción se agitó durante 1 h, se neutralizó con 2 N HCl (1,00 L) hasta pH < 3, luego se extrajo con EtOAc (300 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar una mezcla 1:1 de ácido (3aS,4S,7aR)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (3aR,4R,7aS)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (135 g, 346 mmol, 65,2 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco, que se usó sin ulterior purificación. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,6 (br.s, 1H), 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,34 – 3,30 (m, 1H), 3,23 – 3,18 (m, 1H), 2,88 (t, *J* = 4,4 Hz, 1H), 2,85 – 2,79 (m, 1H), 2,35 – 2,24 (m, 1H), 1,90 – 1,75 (m, 2H), 1,56 – 1,44 (m, 3H), 1,41 – 1,31 (m, 1H).

Paso 5: mezcla 1:1 de (3aR,7S,7aS)-7-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona y (3aS,7R,7aR)-7-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona



A una mezcla 1:1 de ácido (3aS,4S,7aR)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (3aR,4R,7aS)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (135 g, 431 mmol) en tolueno (1300 mL) a 25 °C se
 5 añadió ácido 4-metilbencenosulfónico (7,42 g, 43,1 mmol). La reacción se agitó a 110 °C durante 1 h, se enfrió hasta 25 °C, se diluyó con agua (300 mL) y se extrajo con EtOAc (200 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃(ac.) (200 mL) y salmuera (200 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar una mezcla 1:1 de (3aR,7S,7aS)-7-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona y (3aS,7R,7aR)-7-
 10 (4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona (118 g, 375 mmol, 87 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco, que se usó sin ulterior purificación. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,45 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,25 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,15 (q, *J* = 4,4 Hz, 1H), 3,84 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,26 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,02 – 2,98 (m, 1H), 2,61 – 2,54 (m, 1H), 1,83 (d, *J* = 9,6 Hz, 3H), 1,49 – 1,34 (m, 2H), 1,12 – 1,06 (m, 1H).

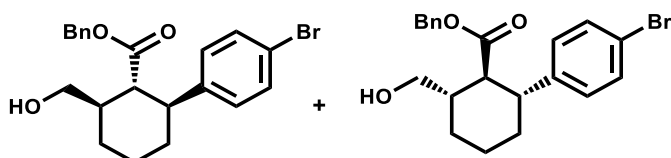
15 Paso 6: mezcla 1:1 de ácido (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y (1S,2R,6S)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla 1:1 de (3aR,7S,7aS)-7-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona y (3aS,7R,7aR)-7-(4-bromofenil)hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona (118 g, 0,400 mol) en metanol (1,18 L) a 25 °C se añadió KOH (112 g, 2,00 mol). La reacción se agitó a 75 °C durante 3 h, se enfrió hasta 0 °C, se neutralizó con 2 N HCl (1,00 L) hasta pH < 3 y se extrajo con EtOAc (400 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar una mezcla 1:1 de ácido
 20 (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1S,2R,6S)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (105 g, 287 mmol, 71,9 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco, que se usó sin ulterior purificación. ¹H RMN (400

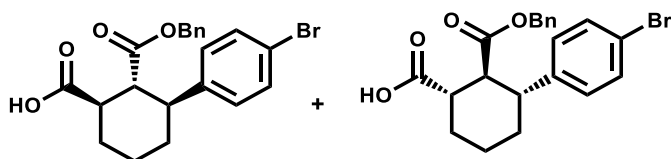
MHz, DMSO- d_6) δ 11,8 (s, 1H), 7,46 – 7,41 (m, 2H), 7,18 – 7,15 (m, 2H), 4,50 (s, 1H), 3,40 – 3,36 (m, 1H), 3,20 – 3,16 (m, 1H), 2,71 – 2,64 (m, 1H), 2,25 (t, J = 10,8 Hz, 1H), 1,94 – 1,90 (m, 1H), 1,80 – 1,63 (m, 3H), 1,43 – 1,37 (m, 2H), 1,12 – 1,08 (m, 1H).

Paso 7: mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (105 g, 335 mmol) en DMF (1050 mL) a 0 °C se añadieron K₂CO₃ (139 g, 1,01 mol) y (bromometil)benceno (86 g, 0,50 mol). La reacción se agitó a 25 °C durante 3 h, se diluyó con agua (500 mL) y se extrajo con EtOAc (200 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, se concentraron, se trituraron con 5:1 *n*-hexano:acetato de etilo (300 mL) a 20 °C durante 30 min, se filtraron, se lavaron con *n*-hexano (100 mL X 3) y se secaron a presión reducida a 40 °C para proporcionar una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (98,0 g, 237 mmol, 70,7 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,41 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,25 – 7,23 (m, 3H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,87 – 6,85 (m, 2H), 4,87 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 4,53 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 3,30 – 3,27 (m, 1H), 3,23 – 3,18 (m, 1H), 2,73 – 2,67 (m, 1H), 2,43 (t, J = 10,8 Hz, 1H), 1,88 – 1,85 (m, 1H), 1,81 – 1,70 (m, 3H), 1,52 – 1,36 (m, 2H), 1,18 – 1,09 (m, 1H).

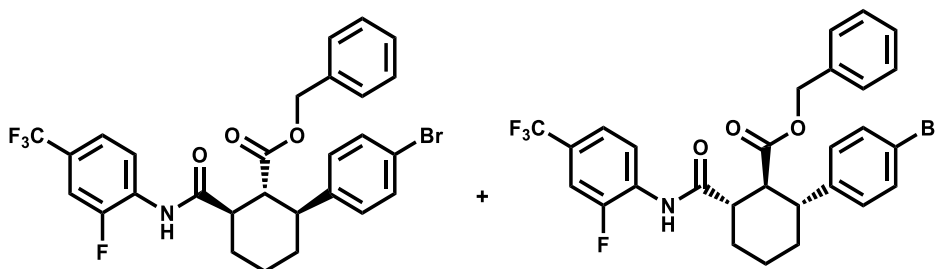
Paso 8: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (95 g, 0,24 mol) en acetonitrilo (950 mL) y agua (30 mL) a 0 °C se añadieron peryodato de sodio (151 g, 707 mmol) y cloruro de rutenio (III) (4,89 g, 23,6 mmol).

- 5 La reacción se agitó a 25 °C durante 3 h, se diluyó con agua (500 mL) y se extrajo con EtOAc (200 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, se concentraron, se trituraron con 3:1 *n*-hexano:acetato de etilo (200 mL) a 20 °C durante 30 min, se filtraron, se lavaron con *n*-hexano (50 mL x 3) y se secaron a presión reducida a 40 °C para proporcionar una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico (88 g, 0,21 mol, 88 % de rendimiento) en forma de un sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,4 (s, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,25 – 7,23 (m, 3H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,84 (d, *J* = 4,4 Hz, 2H), 4,69 (q, *J* = 12,8 Hz, 2H), 2,77 – 2,74 (m, 1H), 2,66 – 2,64 (m, 2H), 2,22 – 2,10 (m, 1H), 1,78 – 1,74 (m, 2H), 1,54 – 1,47 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 439,0 [M+Na]⁺.

Paso 9: mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



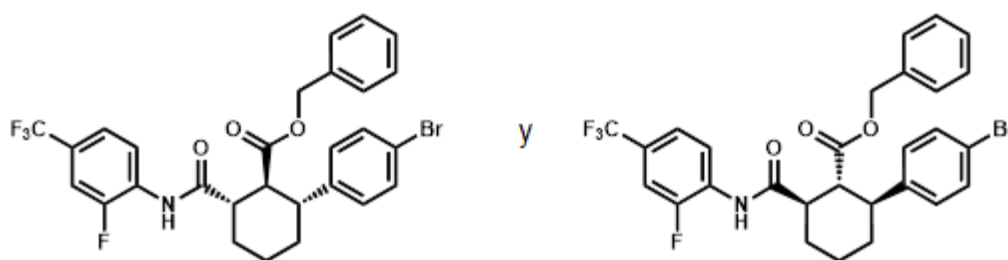
20

A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico (85 g, 0,20 mol) en acetonitrilo (850 mL) se añadió 2-fluoro-4-(trifluorometil)anilina (73,0 g, 407 mmol) y 1-metil-1*H*-imidazol (33,4 g, 407 mmol). Después de ~2 min, hexafluorofosfato de N-(cloro(dimetilamino)metilen)-N-metilmetanaminio (86 g, 0,31 mol) se añadió, en porciones. Después de 12 h a 25 °C, la reacción se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con EtOAc (200 mL X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (200 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron, se concentraron, se disolvieron en EtOAc (500 mL) y se combinaron con de gel de

25

sílice (300 g, 100–200). La mezcla resultante se concentró a 40 °C, se cargaron en una columna de gel de sílice (300 g, gel de sílice de malla 100–200), eluyendo con 10:1 to 5:1 EtOAc en *n*-heptano para dar una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (87 g, 0,15 mol, 73 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ 8,43 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,60 – 7,52 (m, 1H), 7,41 – 7,30 (m, 4H), 7,21 – 7,10 (m, 3H), 7,08 – 7,00 (m, 2H), 6,87 – 6,78 (m, 2H), 4,81 – 4,69 (m, 2H), 3,01 – 2,92 (m, 1H), 2,86 – 2,72 (m, 2H), 2,13 – 2,06 (m, 1H), 2,05 – 1,98 (m, 1H), 1,99 – 1,85 (m, 2H), 1,85 – 1,73 (m, 1H), 1,66 – 1,53 (m, 2H).

Paso 10: (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



15

Una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (35,0 g, 60,5 mmol) se purificó quiralmente por SFC prep quiral (Columna: DAICEL CHIRALPAK AD [250 mm X 50 mm, 10 μm]; fase móvil A:CO₂, fase móvil B:MeOH; tasa de flujo: 100 g/min; gradiente: isocrático 40 % B; 220 nm) para dar

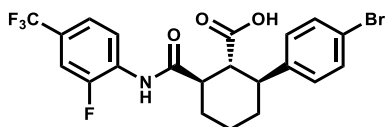
Primer isómero de elución: isómero 1: (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (15,5 g, 25,1 mmol, 41,5 % de rendimiento). Cromatografía quiral analítica: Columna: Chiralpak AD-3, 50×4,6 mm I.D., 3μm fase móvil: A:CO₂ B:MeOH (0,1 %IPA, v/v) gradiente: 5–50 % de B durante 1,2 min, luego 50 % B for 1 min) Tiempo de retención = 1,07 min, en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,15 (s, 1H), 8,16 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,55

(br d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,45 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,26 – 7,12 (m, 5H), 6,81 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 4,77 – 4,62 (m, 2H), 3,13 – 3,03 (m, 1H), 2,96 (t, $J = 11,2$ Hz, 1H), 2,74 (td, $J = 11,6$, 3,4 Hz, 1H), 2,07 (br d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 1,95 – 1,84 (m, 1H), 1,82 – 1,73 (m, 1H), 1,72 – 1,47 (m, 3H).

Segundo isómero de elución: isómero 2: (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (15,3 g, 26,2 mmol, 43,4 % de rendimiento) Cromatografía quiral analítica: Columna: Chiralpak AD-3, 50×4,6 mm I.D., 3µm fase móvil: A:CO₂ B:MeOH (0,1 % de IPA, v/v) gradiente: 5–50 % de B durante 1,2 min, luego 50 % de B durante 1 min) Tiempo de retención = 1,36 min, en forma de un sólido blanco. La estereoquímica absoluta se determinó por estructura cocrystalina de posterior compuesto final con proteína WRN y rastreando hasta los correspondientes compuestos intermedios enantiopuros.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,15 (s, 1H), 8,16 (t, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 10,9$, 1,4 Hz, 1H), 7,55 (br d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,45 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,27 – 7,09 (m, 5H), 6,81 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 4,77 – 4,64 (m, 2H), 3,14 – 3,03 (m, 1H), 2,96 (t, $J = 11,1$ Hz, 1H), 2,78 – 2,70 (m, 1H), 2,12 – 2,02 (m, 1H), 1,93 – 1,84 (m, 1H), 1,81 – 1,73 (m, 1H), 1,71 – 1,45 (m, 3H).

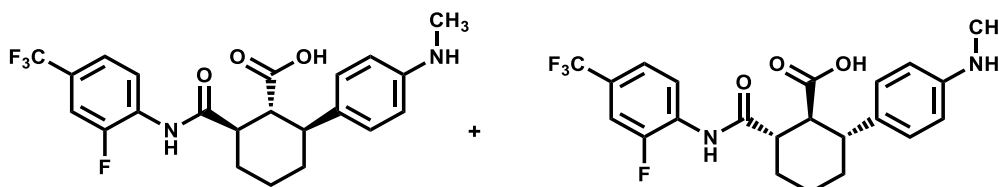
Paso 11: ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico



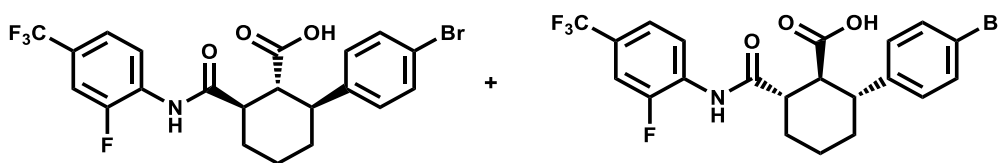
A una mezcla de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,40 g, 0,69 mmol) en diclorometano (10 mL) a 0 °C se añadió BCl₃ (1M en DCM, 1,38 mL, 1,38 mmol). Después de 3 h la reacción se neutralizó con agua fría (2 mL) y se concentró. El residuo resultante se sometió a purificación de fase inversa (70 % de MeCN en H₂O, con 10 mM de modificador de bicarbonato de amonio) para dar ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (0,27 g, 0,51 mmol, 74 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,80 (br s, 1H), 10,13 (s, 1H), 8,21 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 10,8$, 1,6 Hz, 1H), 7,55 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,23 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 2,97 – 2,95 (m, 1H), 2,78 (t, $J = 10,8$ Hz, 1H), 2,68 – 2,66 (m, 1H), 2,02–2,00 (m, 1H), 1,90 – 1,87 (m, 1H), 1,76 – 1,73 (m, 1H),

1,51 – 1,48 (m, 3H). ES-LCMS m/z 486,5, 488,5 $[M-H]^-$.

Compuesto intermedio 6: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

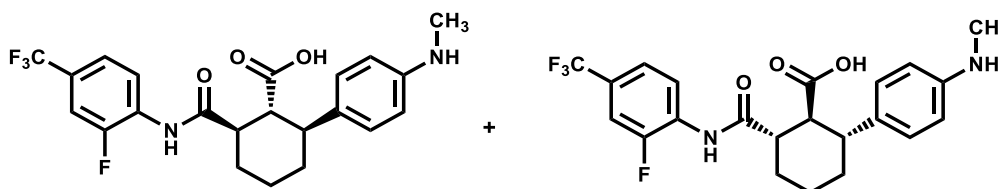


Paso 1: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico



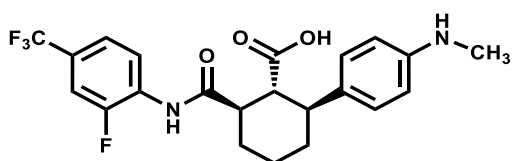
A una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (**Compuesto intermedio 1 Paso 9**) (896 mg, 1,55 mmol) en diclorometano (10 mL) a 0 °C se añadió BCl₃ (1M en DCM, 3,10 mL, 3,10 mmol). Después de 1 h la reacción se neutralizó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, se concentraron, se disolvieron en DMF (1,5 mL) y se purificaron sobre sílice (columna C18 de 40 g), eluyendo con 5–100 % de acetonitrilo en agua para dar mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (340 mg, 0,689 mmol, 44,5 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,76 (s, 1H), 10,09 (s, 1H), 8,20 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 2,99 (t, *J* = 11,2 Hz, 1H), 2,76 – 2,67 (m, 2H), 2,03 – 2,00 (m, 1H), 1,89 – 1,88 (m, 1H), 1,77 – 1,73 (m, 1H), 1,61 – 1,53 (m, 3H). ES-LCMS m/z 488,1 $[M+H]^+$.

Paso 2: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



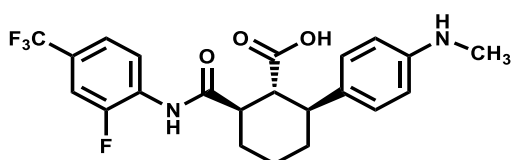
A una solución desgasificada de una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (0,339 g, 0,694 mmol) en DMF (3 mL) se añadieron Cs₂CO₃ (679 mg, 2,08 mmol) y *t*-BuBrettPhos Palladacycle Gen. 3 (119 mg, 0,139 mmol). Metanamina (2M en THF, 2,25 mL, 4,50 mmol) se añadió y la mezcla se calentó a 60 °C durante 2 h, se neutralizó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se filtraron, se concentraron, se disolvieron en DMF (2 mL) y se purificaron sobre sílice (columna C18 de 40 g), eluyendo con 5–100 % de acetonitrilo en agua para dar mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,060 g, 0,14 mmol, 51 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,63 (br, 1H), 10,11 (br, 1H), 8,22 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,71 – 7,68 (m, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,95 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,43 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 5,39 – 5,37 (m, 1H), 3,00 – 2,93 (m, 1H), 2,70 – 2,67 (m, 2H), 2,64 (d, *J* = 4,0 Hz, 3H), 1,99 – 1,96 (m, 1H), 1,87 – 1,84 (m, 1H), 1,73 – 1,68 (m, 1H), 1,54 – 1,47 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 439,1 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 7: ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

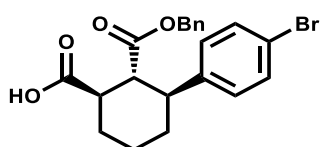


A una solución desgasificada de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico **Compuesto intermedio 1** (1,50 g, 3,1 mmol) en DMF (30 mL) se añadieron Cs₂CO₃ (3,0 g, 9,2 mmol), metanamina (2M en THF, 30,7 mL, 61,4 mmol) y *t*-BuBrettPhos Palladacycle Gen. 3 (525 mg, 0,614 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 2 h, se enfrió hasta ta y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se diluyó hasta 100 mL con DMF para dar el producto en forma de una solución en DMF. Dos alícuotas de 9 mL se eliminaron para posteriores reacciones mientras los restantes 82 mL se concentraron a presión reducida para obtener material que se purificó sobre sílice (columna 150 g C18 Gold), eluyendo con 30–60 % MeCN en agua (con 10 nM de bicarbonato de amonio y 0,075 % de hidróxido de amonio) para dar ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (953 mg, 2,17 mmol, 86 % de rendimiento) en forma de un sólido tostado. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,82 – 11,29 (br s, 1H), 10,24 (br s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,65 (dd, *J* = 10,8, 1,5 Hz, 1H), 7,51 (br d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,42 d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 5,61 – 5,14 (m, 1H), 3,06 – 2,82 (m, 1H), 2,69 – 2,41 (m, 2H), 2,63 (s, 3H), 1,93 (br d, *J* = 10,3 Hz, 1H), 1,86 – 1,75 (m, 1H), 1,71 – 1,61 (m, 1H), 1,55 – 1,35 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 439,2 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 7, síntesis alternativa: ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



Paso 1: ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico



A. Cuatro reacciones (850 g x 4) se llevaron a cabo en paralelo:

THF (25,5 L) se añadió a una mezcla de (1*R*)-1-(1-naftil)etanamina (348 g, 2,04 mol) y una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-

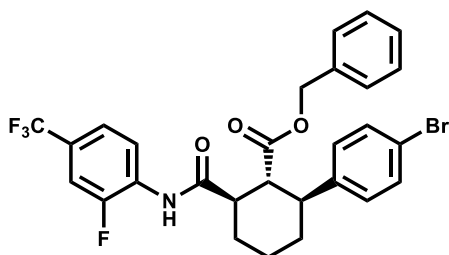
1-carboxílico y ácido (1S,2S,3R)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico **Compuesto intermedio 1 Paso 8** (0,850 kg, 2,04 mol) a 25 °C, en una porción. La reacción se calentó hasta 65 °C. Después de 40 min, la mezcla se enfrió hasta 60 °C. Después de 2 h, la mezcla luego se enfrió hasta 50 °C y después de 2 h más, la reacción se
5 enfrió hasta 25 °C. Después de 12 h, las cuatro reacciones se combinaron y se filtraron y la torta filtrante se lavó con THF (5,00 L). La torta filtrante se secó al vacío a 40 °C para dar la sal no deseada en forma de un sólido blanco (1,50 kg). El líquido madre (~ 1,70 kg en líquido madre [25,5 L THF]) se usó en la siguiente etapa directamente.

B. Cuatro reacciones (425 g x 4) se llevaron a cabo en paralelo.

10 Al líquido madre del paso A (~425 g en líquido madre [6,37 L, THF]) se añadió (1S)-1-(1-naftil)etanamina (174 g, 1,02 mol) a 25 °C en una porción. La mezcla se calentó hasta 50 °C durante 2 h, luego se enfrió hasta 25 °C. Después de 12 h, las cuatro reacciones se combinaron y se filtraron y la torta filtrante se lavó con THF (2,00 L). La torta filtrante se secó al vacío a 40 °C para dar ácido (1R,2R,3S)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-
15 bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico, sal de (1S)-1-(1-naftil)etanamina (1,50 kg, 3,59 mol, 99,6 %) en forma de un sólido blanco. Este material se dividió y se usó en cuatro reacciones (375 g X 4) realizadas en paralelo.

C. Acetato de etilo (800 mL) se añadió a la anterior sal de (1S)-1-(1-naftil)etanamina (375 g, 899 mmol) a 25 °C en una porción. El pH de la mezcla se ajustó a ~1 con 1 M HCl
20 (899 mL, 899 mmol) a 0 ~ 5 °C y la reacción se volvió transparente. Las cuatro reacciones se combinaron para elaboración. La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3,00 L X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (2,00 L X 3), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío a 40 °C para dar el producto crudo en forma de un sólido blanco. Este material se trituró con MTBE:EtOAc (3:1, 5 L) a 25
25 °C durante 30 min, se filtró, se lavó con MTBE (500 mL X 3) y se secó a presión reducida a 40 °C para dar ácido (1R,2R,3S)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico (1,19 kg, 2,85 mol, 35,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,3 (s, 1H), 7,42 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,25 – 7,23 (m, 3H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,83 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 4,69 (q, *J* = 12,8 Hz, 2H), 2,77 – 2,74 (m, 1H), 2,67 –
30 2,63 (m, 2H), 2,22 – 2,10 (m, 1H), 1,78 – 1,74 (m, 2H), 1,54 – 1,47 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 439,2 [M+Na]⁺.

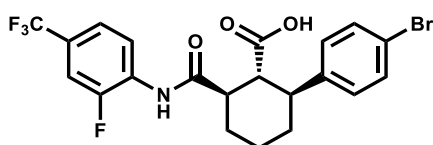
Paso 2: (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



Tres reacciones (393 g X 3) se llevaron a cabo en paralelo.

A una mezcla de ácido (1R,2R,3S)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)ciclohexan-1-carboxílico (393 g, 942 mmol) en acetonitrilo (1,70 L) a 0 °C se
 5 añadió 2-fluoro-4-(trifluorometil)anilina (337 g, 1,88 mol) y NMI (155 g, 1,88 mol). Después de ~2 min, TCFH (396 g, 1,41 mmol) se añadió en porciones. La reacción se agitó a 25 °C durante 12 h. Las tres reacciones se combinaron, se concentraron a 40 °C, se disolvieron en DCM, se cargaron en gel de sílice (gel de sílice de malla 100–200, cromatografía en columna autopreparada) y se eluyeron con 100:1 a 3:1 EtOAC:éter de petróleo para dar producto crudo.
 10 Este material se trituroó con éter de petróleo (3,00 L) a 25 °C durante 2 h, se filtró, se lavó con éter de petróleo (500 mL X 3) y se secó a presión reducida a 40 °C para proporcionar (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (910 g, 1,57 mol, 55,8 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco.
 15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,1 (s, 1H), 8,15 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,70 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,19 – 7,13 (m, 3H), 6,80 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 4,68 (q, *J* = 12,4 Hz, 1H), 3,09 – 3,04 (m, 1H), 2,98 – 2,92 (m, 1H), 2,75 – 2,69 (m, 1H), 2,07 – 2,04 (m, 1H), 1,89 – 1,87 (m, 1H), 1,77 – 1,74 (m, 1H), 1,66 – 1,52 (m, 3H).

Paso 3: ácido (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico
 20



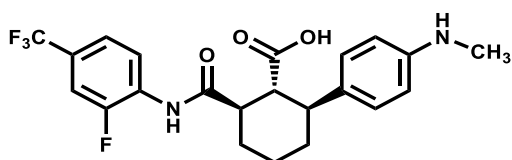
Tres reacciones (217 g X 3) se llevaron a cabo en paralelo.

A una mezcla de (1R,2S,6R)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (217 g, 375 mmol) en DCM
 25 (1,20 L) a –30 °C se añadió BBr₃ (188 g, 0,750 mol). Después de 1 h, las tres reacciones se

combinaron, se enfriaron hasta 0 °C, se neutralizaron con agua (3,00 L) y se extrajeron con EtOAc (2,40 L X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (2,00 L), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida a 40 °C para dar residuo crudo. El producto crudo se trituro con 5:1 PE:EA (4,80 L) a 25 °C durante 2 h, se filtró, se lavó con PE (500 mL X 3) y se secó a presión reducida a 40 °C para proporcionar ácido

(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (0,610 kg, 1,25 mol, 84,9 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,8 (s, 1H), 10,0 (s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,70 (dd, *J* = 10,8, 1,6 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,22 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,03 – 2,97 (m, 1H), 2,82 – 2,76 (m, 1H), 2,71 – 2,65 (m, 1H), 2,02 – 2,00 (m, 1H), 1,87 (m, 1H), 1,76 – 1,73 (m, 1H), 1,59 – 1,47 (m, 3H).

Paso 4: ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

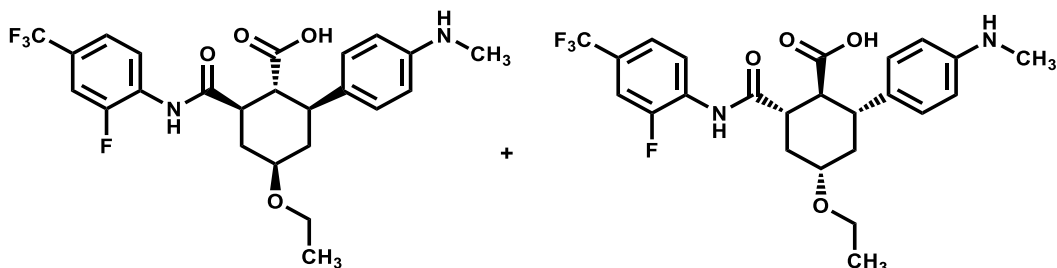


Dos reacciones (100 g x 2) se llevaron a cabo en paralelo.

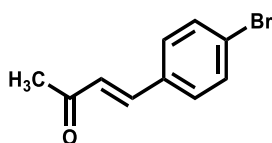
A una mezcla de ácido (1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (0,100 kg, 204 mmol) en DMF (600 mL) a 20 °C se añadieron Cs₂CO₃ (0,200 kg, 614 mmol), *t*-BuBrettPhos Palladacycle Gen. 3 (35,0 g, 40,9 mmol) y metanamina (426 g, 4,12 mol). La reacción se calentó hasta 60 °C durante 2 h. Las dos reacciones se combinaron, se enfriaron hasta 20 °C, se vertieron en agua (2,40 L) y se extrajeron con MTBE (800 mL X 3). La fase acuosa se ajustó hasta pH = 6 con 1 M HCl (1,20 L) y se extrajo con 2-Me-THF (1,50 L X 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (1,00 L X 3), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida a 30 °C para dar residuo crudo. El producto crudo se trituro con 1:1 EtOAc: MTBE (600 ml) a 20 °C durante 30 min, se filtró, se lavó con PE (500 mL X 3) y se secó a presión reducida a 40 °C para dar ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,120 kg, 273 mmol, 66,8 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,6 (s, 1H), 10,0 (s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,70 (d, *J* = 9,6 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,42 (d, *J* = 8,4

Hz, 2H), 5,42 (s, 1H), 2,99 – 2,93 (m, 1H), 2,71 – 2,62 (m, 4H), 2,54 – 2,50 (m, 1H), 1,98 – 1,96 (m, 1H), 1,85 – 1,853 (m, 1H), 1,71 – 1,68 (m, 1H), 1,51 – 1,46 (m, 3H).

Compuesto intermedio 8: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

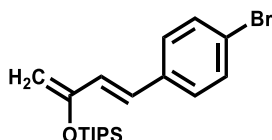


Paso 1: (*E*)-4-(4-bromofenil)but-3-en-2-ona



10 Tres reacciones se llevaron a cabo en paralelo (1,35 kg x 3): A una mezcla de 4-bromobenzaldehído (1,35 kg, 7,30 mol), acetona (5,4 L) y H₂O (10,8 L) se añadió NaOH (135 g, 3,37 mol), lentamente a través de un embudo de goteo a 15–20 °C. La reacción mezcla se agitó a 15–20 °C durante 12 h. Los tres lotes se combinaron y la reacción mezcla se filtró. La torta filtrante se lavó agua (1,00 L) y se concentró al vacío a 45 °C para dar el compuesto (*E*)-4-(4-bromofenil)but-3-en-2-ona (4,60 kg, 20,0 mol, 89,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,68 – 7,57 (m, 5H), 6,83 (d, *J* = 16 Hz, 1H), 2,33 (s, 3H). ES-LCMS *m/z* 224,9 [M+H]⁺.

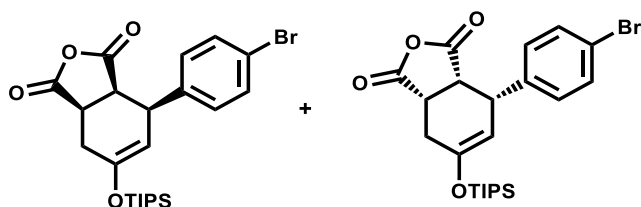
Paso 2: (*E*)-((4-(4-bromofenil)buta-1,3-dien-2-il)oxi)triisopropilsilano



20 Diez reacciones se llevaron a cabo en paralelo (340 g x 10): una mezcla de (*E*)-4-(4-bromofenil)but-3-en-2-ona (0,34 kg, 1,51 mol) en 2-metiltetrahidrofurano (2,04 L) se

desgasificó y se purgó con N₂ 3 veces. La reacción se enfrió hasta -20 °C y TIPSOTf (451 mL, 1,66 mol) y Et₃N (421 mL, 3,02 mol) se añadieron gota a gota. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h y la reacción estaba completa. Las reacciones se combinaron, se vertieron en agua helada (15,0 L) y se dividieron en 2-Me-THF y agua. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄ durante 12 h, se filtraron y se concentraron a menos de 30 °C *al vacío* para dar (E)-((4-(4-bromofenil)buta-1,3-dien-2-il)oxi)triisopropilsilano (5,75 kg, 14,8 mol, rendimiento cuantitativo). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,51 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 6,83 (d, J = 16 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 17 Hz, 1H), 4,54 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 1,28 – 1,33 (m, 3 H), 1,13 – 1,08 (m, 18H). ES-LCMS *m/z* 381,1 [M+H]⁺.

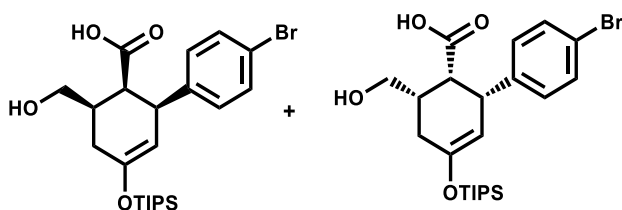
Paso 3: mezcla 1:1 de (3a*S*,4*S*,7a*R*)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3a*R*,4*R*,7a*S*)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona



18 reacciones se llevaron a cabo en paralelo (300 g x 18): A una mezcla de furan-2,5-diona (390 g, 3,9 mol) en DCM (2,0 L) se añadió una solución de (E)-((4-(4-bromofenil)buta-1,3-dien-2-il)oxi)triisopropilsilano (300 g, 790 mmol) en DCM (1,0 L) lentamente durante 15 min a 15 °C. Luego la mezcla se agitó a 25 °C durante 3,5 h. Las reacciones se combinaron y se concentraron al vacío a 30 °C y se trituraron con *n*-heptano (5,00 L). El producto sólido resultante se recolectó por filtración y se lavó con *n*-heptano (1,00 L). El filtrado luego se concentró al vacío a 30 °C y luego se concentró con *n*-heptano, se filtró y se lavó con *n*-heptano para recuperar el producto adicional. El proceso de recuperación se repitió 3 veces más y los productos se combinaron para proporcionar una mezcla 1:1 de (3a*S*,4*S*,7a*R*)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3a*R*,4*R*,7a*S*)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona (5,60 kg, 8,25 mol, crudo) en forma de sólido amarillo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,52 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,13 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,07 – 5,05 (m, 1 H), 3,92 – 3,80 (m, 3H), 2,66 – 2,53 (m, 2H), 1,08 – 1,03 (m, 21H).

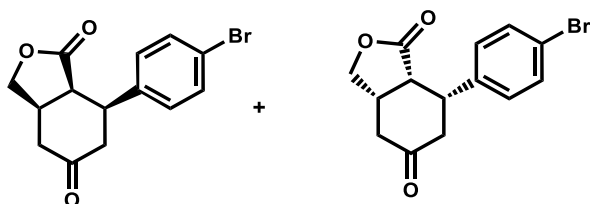
Paso 4: mezcla 1:1 de ácido (1*S*,2*S*,3*R*)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico y ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-4'-

bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico



Una mezcla 1:1 de (3aS,4S,7aR)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona y (3aR,4R,7aS)-4-(4-bromofenil)-6-((triisopropilsilil)oxi)-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1,3-diona (5,50 kg, 11,5 mol) en THF (36,0 L) se desgasificó y se purgó con N₂ 3 veces. La reacción se enfrió hasta 0 °C y NaBH₄ (521 g, 13,8 mol) se añadió a la mezcla, en porciones, a 0-3 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h y agua (962 mL) se añadió lentamente a la reacción a 0-5 °C durante 10 min. HCl (1 N) se añadió a la mezcla hasta pH = 7. La reacción se agitó a 5-10 °C durante 20 min y Na₂SO₄ anhidro (1,00 kg) se añadió. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida para dar una mezcla 1:1 de ácido (1S,2S,3R)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico y ácido (1R,2R,3S)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico (3,60 kg, crudo) en forma de un sólido blanco, que se usó sin purificación. ES-LCMS *m/z* 483,2 [M+H]⁺.

Paso 5: mezcla 1:1 de (3aR,7S,7aS)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3H,4H)-diona y (3aS,7R,7aR)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3H,4H)-diona



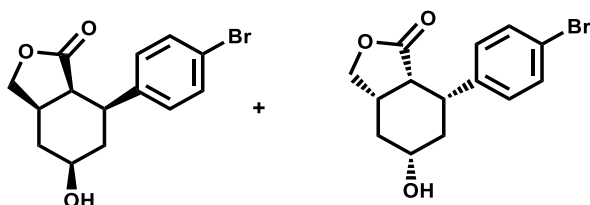
Diez reacciones se llevaron a cabo en paralelo (220 g x 10): una mezcla 1:1 de ácido (1S,2S,3R)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico y ácido (1R,2R,3S)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico (220 g, 4,55 mol) en tolueno (1,32 L) se desgasificó y se purgó con N₂ 3 veces. TsOH (8,70 g, 0,455 mol) se añadió a la mezcla a 20 °C y la reacción se agitó a 110 °C durante 12 h. La mezcla se vertió en H₂O (1,2 L) a 0 °C y la

capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (300 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (150 mL) y salmuera (150 mL) y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida a 40 °C para proporcionar a producto crudo.

5 En una reacción separada, una mezcla 1:1 de ácido (1*S*,2*S*,3*R*)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico y ácido (1*R*,2*R*,3*S*)-4'-bromo-3-(hidroximetil)-5-((triisopropilsilil)oxi)-1,2,3,4-tetrahidro-[1,1'-bifenil]-2-carboxílico (400 g, 827 mmol) en tolueno (2,4 L) se desgasificó y se purgó con N₂ 3 veces. TsOH (15,7 g, 83,0 mmol) se añadió a la mezcla a 20 °C y la reacción se agitó a 110
10 °C durante 13 h. La mezcla se vertió en H₂O (500 mL) a 0 °C y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (500 mL x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (500 mL) y salmuera (500 mL) y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para proporcionar a producto crudo.

Los dos productos crudos se combinaron y se trituraron con éter isopropílico (700 mL)
15 a 20 °C durante 30 min. La mezcla se filtró, se lavó con éter isopropílico (100 mL) y se secaron a presión reducida para proporcionar una mezcla 1:1 de (3*aR*,7*S*,7*aS*)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3*H*,4*H*)-diona y (3*aS*,7*R*,7*aR*)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3*H*,4*H*)-diona (550 g, 1,78 mol, 33 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,51 – 7,49 (m, 2H), 7,29 – 7,26 (m, 2H), 4,36 – 4,32 (dd, *J* = 5,6 Hz, *J* = 8,8 Hz, 1H), 3,91 – 3,88 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,69 – 3,63 (dt, *J* = 4,4 Hz, *J* = 14,0 Hz, 1H), 3,49 – 3,43 (m, 1H), 3,19 – 3,11 (m, 1H), 2,73 – 2,64 (m, 2H), 2,48 – 2,44 (m, 1H), 2,37 – 2,30 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 310,1 [M+H]⁺.

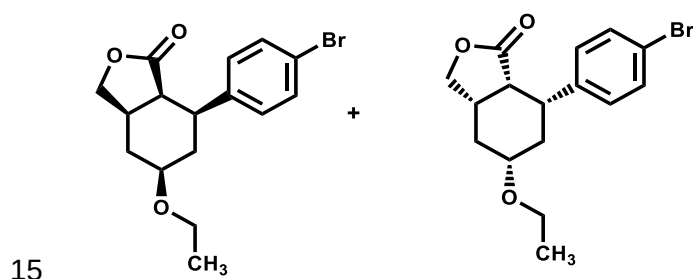
Paso 6: mezcla 1:1 de (3*aR*,5*R*,7*S*,7*aS*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxi-hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3*aS*,5*S*,7*R*,7*aR*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxi-hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona
25



A una mezcla 1:1 de (3*aR*,7*S*,7*aS*)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3*H*,4*H*)-diona y (3*aS*,7*R*,7*aR*)-7-(4-bromofenil)tetrahidroisobenzofuran-1,5(3*H*,4*H*)-diona (11,0 g, 35,6 mmol), en THF (100 mL) y metanol (100 mL) a 0°C se añadió borhidruro

de sodio sólido (3,37 g, 89,0 mmol) en porciones durante 5 min. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, se neutralizó con agua (100 mL) y se extrajo con EtOAc (500 mL). La capa de EtOAc se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar una mezcla 1:1 de (3a*R*,5*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3a*S*,5*S*,7*R*,7a*R*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (7,00 g, 21,6 mmol, 60,7 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco, que se usó sin ulterior purificación. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,47 (d, *J* = 4 Hz, 2H), 7,24 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,86 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,20–4,16 (m, 1H), 3,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,56–3,55 (m, 1H), 3,21–3,18 (m, 1H), 3,11–3,07 (m, 1H), 2,67–2,64 (m, 1H), 1,99–2,02 (m, 2H), 1,39 (q, *J* = 12,8 Hz, 1H), 1,00 (q, *J* = 12,8 Hz, 1H). ES-LCMS *m/z* 311,1 [M+H]⁺.

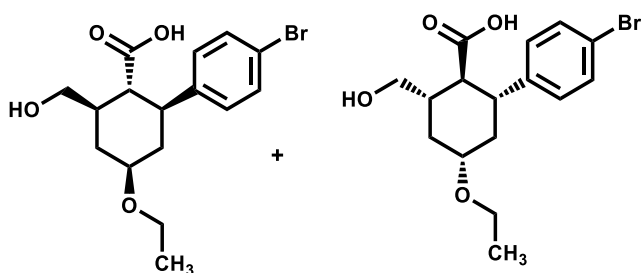
Paso 7: mezcla 1:1 de (3a*R*,5*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3a*S*,5*S*,7*R*,7a*R*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona



A una mezcla 1:1 de (3a*R*,5*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3a*S*,5*S*,7*R*,7a*R*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (5,00 g, 16,1 mmol), en *N,N*-dimetilformamida (50 mL) a 0°C se añadió solid NaH (1,29 g, 32,1 mmol). Después de 30 min, yoduro de etilo (13,0 mL, 161 mmol) se añadió y la reacción se agitó a ta durante 16 h. La reacción se neutralizó con 2*N* HCl (~10 mL) hasta pH < 3 y se extrajo con EtOAc (100 mL, 3 veces). Las capas combinadas de EtOAc se lavaron con agua (20 mL) y salmuera (20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo resultante se extrajo en THF (20 mL) y se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 10 mM de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar una mezcla 1:1 de (3a*R*,5*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3a*S*,5*S*,7*R*,7a*R*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (1,70 g, 4,56 mmol, 28,4 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,51 – 7,41 (m, 2H), 7,32 – 7,20 (m, 2H), 4,19 (dd, *J* = 8,8, 4,3 Hz, 1H), 3,95 – 3,83 (m, 1H), 3,57 – 3,42 (m,

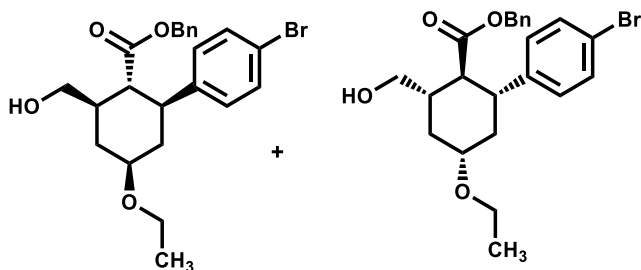
3H), 3,27 – 3,07 (m, 2H), 2,75 – 2,63 (m, 1H), 2,17 (dd, $J = 12,3, 4,3$ Hz, 2H), 1,44 – 1,21 (m, 2H), 1,14 – 1,06 (m, 3H). ES-LCMS m/z 341,0 $[M+H]^+$.

Paso 8: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico



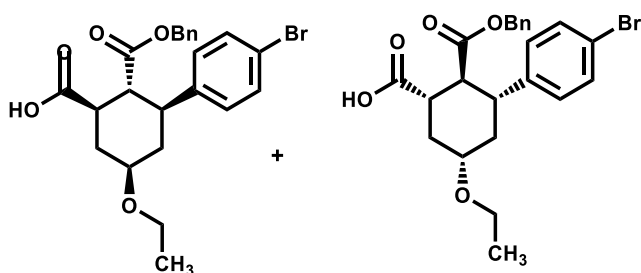
A una mezcla 1:1 de (3*aR*,5*R*,7*S*,7*aS*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3*aS*,5*S*,7*R*,7*aR*)-7-(4-bromofenil)-5-etoxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (2,70 g, 7,96 mmol) en metanol (30 mL) se añadió KOH (2,23 g, 39,8 mmol) y la reacción mezcla se agitó a 75 °C durante 16 h. La reacción se neutralizó con 2N HCl (~15 mL) hasta pH < 3 y el sólido precipitó. Este sólido se filtró, se lavó con agua (5 mL, 4 veces), se lavó con éter de petróleo (5 mL, 4 veces) y se secó para dar una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (2,40 g, 5,71 mmol, 71,7 % de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,85 (br s, 1H), 7,46 – 7,42 (m, 2H), 7,22 – 7,14 (m, 2H), 4,58 (br s, 1H), 3,55 – 3,38 (m, 4H), 3,23 – 3,12 (m, 1H), 2,83 – 2,68 (m, 1H), 2,28 – 2,17 (m, 2H), 1,98 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 1,80 – 1,68 (m, 1H), 1,47 – 1,24 (m, 1H), 1,15 – 1,00 (m, 4H). ES-LCMS m/z 357,0 $[M+H]^+$.

Paso 9: mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (2,40 g, 6,72 mmol) y carbonato de potasio (2,79 g, 20,2 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (25 mL) a 0°C se añadió bromuro de bencilo (0,799 mL, 6,72 mmol), gota a gota durante 1 min. Después de 3 h, se añadió agua helada (20 mL) y la reacción se extrajo con EtOAc (50 mL X 3). Las capas combinadas de EtOAc se lavaron con agua (10 mL) y salmuera (20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron para dar material crudo. El material crudo se sometió a purificación en fase normal (acetato de etilo en éter de petróleo, 0-100 % de gradiente, 50 min de corrida) para dar una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (2,30 g, 4,63 mmol, 68,9 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,47 – 7,37 (m, 2H), 7,29 – 7,22 (m, 3H), 7,19 – 7,11 (m, 2H), 6,86 (dd, *J* = 7,5, 2,0 Hz, 2H), 4,87 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 4,70 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 4,60 (t, *J* = 5,0 Hz, 1H), 3,49 – 3,41 (m, 3H), 3,35 – 3,32 (m, 1H), 3,31 – 3,19 (m, 2H), 2,89 – 2,74 (m, 1H), 2,42 (t, *J* = 11,0 Hz, 1H), 2,21 – 1,95 (m, 2H), 1,90 – 1,77 (m, 1H), 1,42 (q, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,07 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H). ES-LCMS *m/z* mostró pobre ionización.

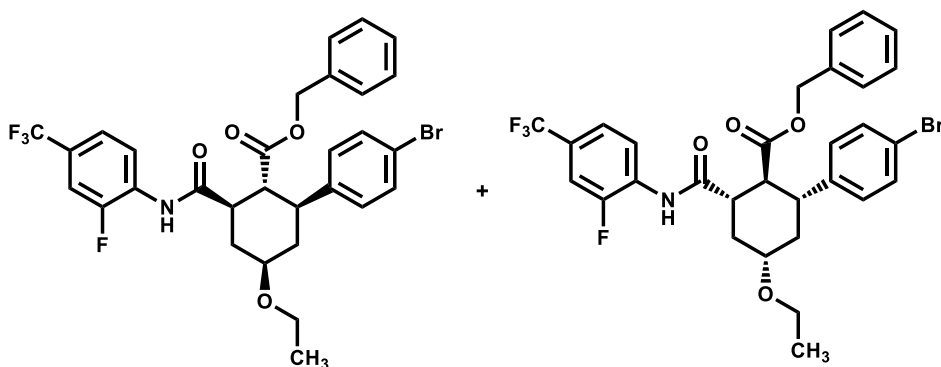
Paso 10: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*,5*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (2,30 g, 5,14 mmol) en acetonitrilo (10 mL) y agua (20 mL) a 0 °C se añadió peryodato de sodio (3,30 g, 15,4 mmol) y cloruro de rutenio (III) (1,07 g, 5,14 mmol). Después de 1 h, agua (100 mL) se añadió y la mezcla se extrajo con EtOAc (500 mL). La capa de EtOAc se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó, se concentró para dar una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*,5*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-

carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-carboxílico (1,60 g, 2,95 mmol, 57,3 % de rendimiento) en forma de un sólido marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,54 (br s, 1H), 7,53 – 7,36 (m, 2H), 7,31 – 7,14 (m, 5H), 6,92 – 6,79 (m, 2H), 4,81 – 4,62 (m, 2H), 3,57 – 3,43 (m, 2H), 3,24 – 3,05 (m, 1H), 2,96 – 2,83 (m, 1H), 2,79 – 2,70 (m, 2H), 2,43 – 2,18 (m, 1H), 1,99 (dd, *J* = 6,8, 5,8 Hz, 1H), 1,62 – 1,49 (m, 1H), 1,45 – 1,30 (m, 1H), 1,08 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS *m/z* 461,0 [M+H]⁺.

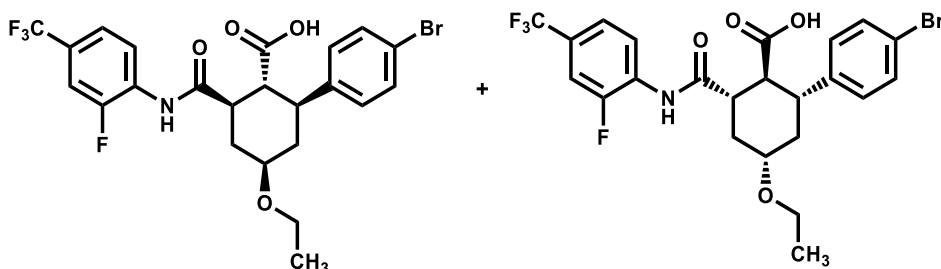
Paso 11: mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,3*S*,5*R*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-etoxiciclohexan-1-carboxílico (1,50 g, 3,25 mmol) en acetonitrilo (10 mL) se añadió 1-metil-1*H*-imidazol (0,518 mL, 6,50 mmol) y 2-fluoro-4-(trifluorometil)anilina (582 mg, 3,25 mmol), secuencialmente, seguido por hexafluorofosfato de cloro-*N,N,N',N'*-tetrametilformamidinio (1,83 g, 6,50 mmol). Después de 2 h, la mezcla se concentró y se sometió a purificación en fase normal (acetato de etilo en éter de petróleo, 0–80 % de gradiente) para dar una mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (1,20 g, 1,79 mmol, 55,1 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,17 (s, 1H), 8,17 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,27 – 7,14 (m, 5H), 6,81 (s, 1H), 6,79 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 4,74 – 4,64 (m, 2H), 3,58 – 3,46 (m, 3H), 3,21 – 3,05 (m, 1H), 2,96 (t, *J* = 11,3 Hz, 1H), 2,82 (td, *J* = 12,0, 3,0 Hz, 1H), 2,39 – 2,34 (m, 1H), 2,12 – 1,97 (m,

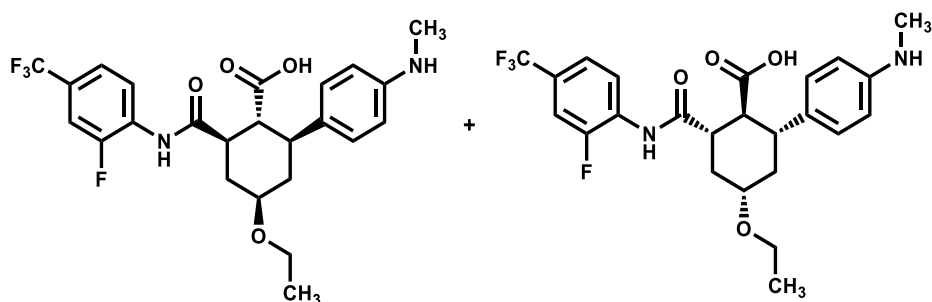
1H), 1,69 – 1,53 (m, 1H), 1,52 – 1,40 (m, 1H), 1,10 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ES-LCMS m/z 622,0 $[M+H]^+$.

Paso 12: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico



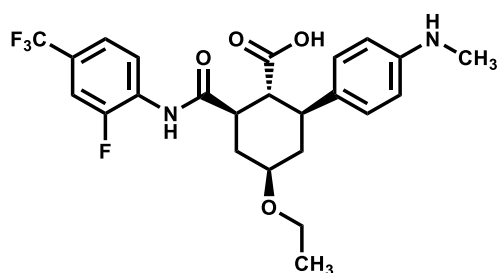
A la mezcla 1:1 de (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,600 g, 0,964 mmol) en DCM (12 mL) a °C se añadió una solución de tricloruro de boro (1,93 mL, 1,93 mmol, 1M en DCM). Después de 1 h, se añadió agua helada (2 mL) y la mezcla se concentró. El residuo resultante se extrajo en THF (5 mL) y se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (350 mg, 0,638 mmol, 66,2 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,27 (br s, 1H), 8,23 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,53 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,44 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,23 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 3,54 – 3,47 (m, 2H), 3,02 – 2,95 (m, 1H), 2,84 – 2,72 (m, 1H), 2,39 – 2,24 (m, 2H), 2,13 – 1,91 (m, 2H), 1,56 – 1,33 (m, 2H), 1,09 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ES-LCMS m/z 532,0 $[M+H]^+$.

Paso 13: mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



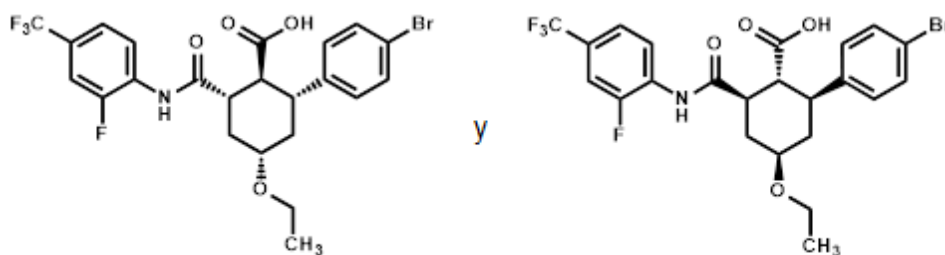
Una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (550 mg, 1,03 mmol) y ter-butóxido de sodio (298 mg, 3,10 mmol) en 1,4-dioxano (5 mL) se agitó durante 5 min. *t*BuXPhos Pd G3 (82,0 mg, 0,103 mmol) se añadió y la mezcla se desgasificó durante 5 min. Metanamina (2M en THF, 10,3 mL, 20,7 mmol) se añadió y la reacción se calentó en un Biotage Initiator (microondas) a 100 °C durante 1h. La mezcla se concentró y el residuo resultante se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 10 nM de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (305 mg, 0,601 mmol, 58,1 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,70 (br s, 1H), 10,10 (br s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 6,99 – 6,95 (m, 2H), 6,46 – 6,42 (m, 2H), 5,50 – 5,36 (m, 1H), 3,54 – 3,47 (m, 3H), 3,32 – 3,27 (m, 1H), 3,06 – 2,98 (m, 1H), 2,71 – 2,66 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,33 – 2,25 (m, 1H), 2,06 – 1,94 (m, 1H), 1,51 – 1,32 (m, 2H), 1,10 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS *m/z* 483,2 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 9: ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



Paso 1: ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-

(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico



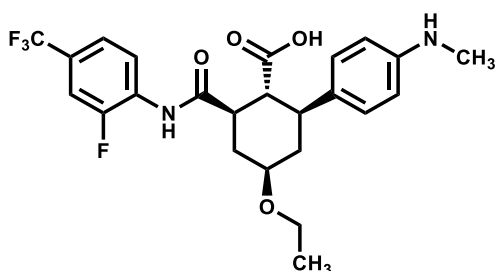
Una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (**Compuesto intermedio 8 Paso 12**) (4,50 g, 8,45 mmol) se purificó quiralmente por SFC prep quiral (Columna: YMC Cellulose-SA 250 X 30 mm, 5µm; fase móvil: 75:25 CO₂: [MeOH con 0,5 % de isopropilamina]) para dar:

Primer isómero de elución ácido (1*S*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (1,20 g, 2,05 mmol, 24,3 % de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,27 (br s, 1H), 8,29 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,73 – 7,64 (m, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,50 – 3,47 (m, 2H), 3,09 – 3,02 (m, 1H), 2,98 – 2,90 (m, 1H), 2,81 – 2,71 (m, 1H), 2,52 (br d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 2,24 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 2,04 – 1,94 (m, 1H), 1,40 (qd, *J* = 12,0, 7,0 Hz, 2H), 1,08 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS *m/z* 532,0 [M+H]⁺.

Segundo isómero de elución ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (1,60 g, 2,92 mmol, 34,5 % de rendimiento) ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,35 (br s, 1H), 8,28 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,68 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,51 – 3,46 (m, 2H), 3,04 (dt, *J* = 12,6, 6,4 Hz, 1H), 2,98 – 2,89 (m, 1H), 2,81 – 2,72 (m, 1H), 2,57 – 2,53 (m, 1H), 2,25 (d, *J* = 11,5 Hz, 1H), 2,02 – 1,95 (m, 1H), 1,47 – 1,34 (m, 2H), 1,09 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS *m/z* 532,0 [M+H]⁺.

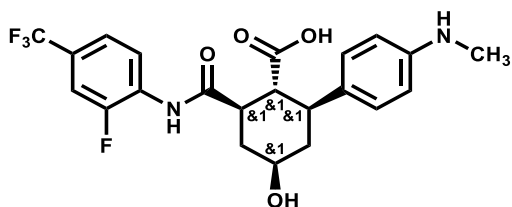
La estereoquímica absoluta se determinó por estructura cocrystalina de posterior compuesto final con proteína WRN y rastreando hasta los correspondientes compuestos intermedios enantiopuros.

Paso 2: ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

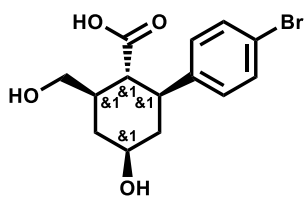


Una mezcla de ácido (1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-etoxi-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)ciclohexan-1-carboxílico (450 mg, 0,845 mmol) y ter-butóxido de sodio (244 mg, 2,54 mmol) en 1,4-dioxano (4,5 mL) se agitó durante 5 min. *t*BuXPhos Pd G3 (67 mg, 0,085 mmol) se añadió y la mezcla se desgasificó durante 5 min. Metanamina (2*M* en THF, 8,45 mL, 16,9 mmol) se añadió y la reacción se calentó en un Biotage Initiator (microondas) a 100 °C durante 1h. La mezcla se concentró y el residuo resultante se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 10 nM de modificador de bicarbonato de amonio, 10–100 % de gradiente) para dar ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (360 mg, 0,709 mmol, 84,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,55 (br s, 1H), 8,29 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,39 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 5,32 (br s, 1H), 3,47 (qd, *J* = 7,0, 1,5 Hz, 2H), 3,42 – 3,37 (m, 1H), 2,84 (t, *J* = 10,8 Hz, 1H), 2,69 – 2,58 (m, 4H), 2,44 – 2,35 (m, 1H), 2,23 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 1,92 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,37 – 1,25 (m, 2H), 1,08 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H). ES–LCMS *m/z* 483,2 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 11: ácido rac-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-hidroxi-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

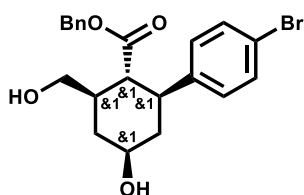


Paso 1: ácido rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico



A la mezcla 1:1 de (3a*R*,5*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona y (3a*S*,5*S*,7*R*,7a*R*)-7-(4-bromofenil)-5-hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona **Compuesto intermedio 8 Paso 6** (3,20 g, 10,3 mmol) se añadió KOH (2,88 g, 51,4 mmol). La reacción se agitó a 75 °C durante 3 h, se neutralizó con 2N HCl (~20 mL) hasta pH < 3, se concentró, luego se purificó por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar ácido rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (2,30 g, 6,92 mmol, 67,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ δ 7,41 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,15 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,58 – 3,53 (m, 1H), 3,41 – 3,38 (m, 1H), 3,24 – 3,21 (m, 1H), 2,78 – 2,71 (m, 1H), 2,15 – 2,10 (m, 1H), 2,05 (d, *J* = 12,4 Hz, 1H), 1,83 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,73 – 1,68 (m, 1H), 1,29 (q, *J* = 12,4 Hz, 1H), 1,05 (q, *J* = 12,4 Hz, 1H), dos protones oscurecidos por pico de solvente. ES-LCMS *m/z* 329,0 [M+H]⁺.

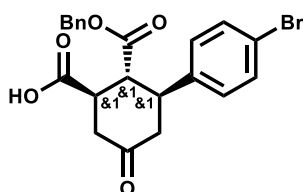
Paso 2: rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla de ácido rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxílico (2,30 g, 6,99 mmol) y carbonato de potasio (2,90 g, 20,9 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (20 mL) a 0 °C se añadió bromuro de bencilo (0,83 mL, 7,0 mmol), gota a gota durante 1 min. La reacción se agitó a ta durante 3 h, se diluyó con agua helada (30 mL) y se extrajo con acetato de etilo (2 X 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 mL) y salmuera (20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron y se purificaron por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil) ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (2,10 g,

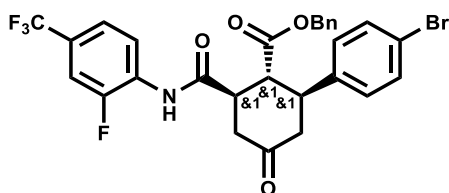
4,51 mmol, 65,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,96 (s, 1H), 7,45 – 7,41 (m, 2H), 7,27 – 7,22 (m, 3H), 7,16 – 7,12 (m, 2H), 6,89 – 6,85 (m, 2H), 4,88 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 4,74 – 4,69 (m, 1H), 4,59 – 4,57 (m, 1H), 3,61 (s, 1H), 3,32 – 3,20 (m, 1H), 2,90 (s, 2H), 2,79 – 2,74 (m, 1H), 2,38 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 2,04 – 1,09 (m, 4H). ES-LCMS m/z : pobre ionización en MS.

Paso 3: ácido rac-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-oxociclohexan-1-carboxílico



A una mezcla de rac-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-4-hidroxi-6-(hidroximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (2,10 g, 5,01 mmol) en acetonitrilo (31 mL) y agua (15 mL) a -20 °C se añadieron peryodato de sodio (3,21 g, 15,0 mmol) y cloruro de rutenio (III) (1,04 g, 5,01 mmol). Después de 1h, la reacción se diluyó con agua (35 mL) y se extrajo con acetato de etilo (4 X 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (20 mL) y salmuera (25 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se concentraron, luego se purificaron por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0-100 % de gradiente) para dar ácido rac-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-oxociclohexan-1-carboxílico (1,1 g, 2,4 mmol, 49 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,48 (d, J = 1,6 Hz, 2H), 7,28 – 7,23 (m, 5H), 6,88 (dd, J = 6,6, 4,0 Hz, 2H), 4,77 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,69 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 3,25 (t, J = 11,2 Hz, 1H), 3,16 – 2,84 (m, 4H), 2,68 (t, J = 13,6 Hz, 1H), 2,55 – 2,53 (m, 1H), 2,26 – 2,21 (m, 1H). ES-LCMS m/z 429,0 $[\text{M}-\text{H}]^+$.

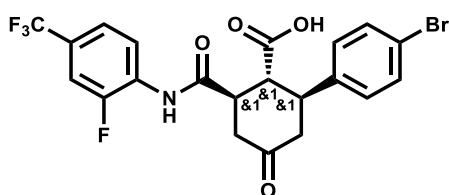
Paso 4: rac-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una suspensión de ácido rac-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-

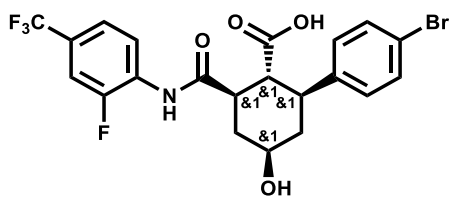
5-oxociclohexan-1-carboxílico (0,30 g, 0,69 mmol) en acetonitrilo (1,5 mL) se añadieron 1-metil-1*H*-imidazol (0,111 mL, 1,39 mmol) y 2-fluoro-4-(trifluorometil)anilina (125 mg, 0,690 mmol) seguido por hexafluorofosfato de cloro-N,N,N',N'-tetrametilformamidinio (390 mg, 1,39 mmol). Después de 2 h, la reacción se concentró y se purificó por cromatografía de fase normal (acetato de etilo en éter de petróleo, 0-50 % de gradiente) para dar *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil) fenil) carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,26 g, 0,40 mmol, 57 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,31 (s, 1H), 8,15 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,75 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,32 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,23 – 7,15 (m, 3H), 6,84 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 4,73 (q, *J* = 12,8 Hz, 2H), 3,54 – 3,46 (m, 2H), 3,20 – 3,17 (m, 1H), 3,01 (t, *J* = 13,6 Hz, 1H), 2,83 (t, *J* = 13,2 Hz, 1H), 2,68 – 2,60 (m, 1H), 2,37 – 2,33 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 592,0 [M-H]⁺.

Paso 5: ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxílico



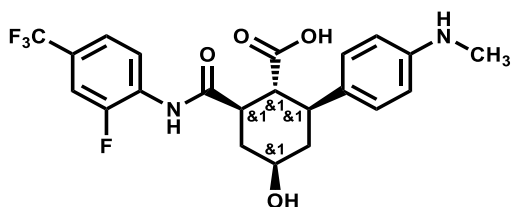
A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil) fenil) carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,26 g, 0,44 mmol) en diclorometano (5 mL) a 0 °C se añadió una solución de tricloruro de boro (1M en DCM, 0,878 mL, 0,878 mmol), gota a gota, durante 2 min. Después de 1 h, la reacción se neutralizó con agua helada (2 mL), se concentró y se purificó por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 10-100 % de gradiente) para dar ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxílico (0,14 g, 0,26 mmol, 60 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,38 (s, 1H), 8,23 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,32 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,42 – 3,41 (m, 1H), 3,29 – 3,23 (m, 1H), 3,13 (t, *J* = 4,0 Hz, 1H), 2,92 (t, *J* = 13,6 Hz, 1H), 2,80 (t, *J* = 13,6 Hz, 1H), 2,55 – 2,52 (m, 1H), 2,46–2,29 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 499,8 [M-H]⁻.

Paso 6: ácido *rac*-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil) fenil)carbamoil)-4-hidroxiciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla de ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxílico (0,14 g, 0,28 mmol) en metanol (2 mL) y tetrahidrofurano (2 mL) a 0°C se añadió borhidruro de sodio (26,4 mg, 0,697 mmol) durante 1 min. Después de 3h, la reacción se concentró, luego se purificó por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar ácido *rac*-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil) fenil)carbamoil)-4-hidroxiciclohexan-1-carboxílico (70 mg, 0,14 mmol, 49 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,19 (s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 11,2, 1,6 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,23 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,90 (s, 1H), 3,69 – 3,33 (m, 1H), 3,08 – 3,01 (m, 1H), 2,80 – 2,65 (m, 2H), 2,15 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 2,09 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 1,91 – 1,47 (m, 2H). ES-LCMS *m/z* 504,0 [M+H]⁺.

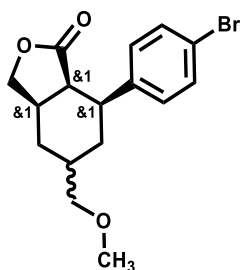
Paso 7: ácido *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-hidroxi-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



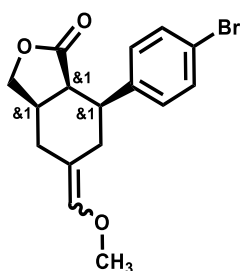
A una mezcla de ácido *rac*-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil) fenil)carbamoil)-4-hidroxiciclohexan-1-carboxílico (70,0 mg, 0,140 mmol) y *ter*-butóxido de sodio (40,0 mg, 0,420 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL) en a 10 mL microondas vial se añadió *t*BuXPhos Pd G3 sólido (11,03 mg, 0,0140 mmol) y metanamina (2M en THF, 1,39 mL, 2,78 mmol). La reacción se calentó a 100 °C durante 1 h en un iniciador de microondas Anton. La reacción se concentró, luego se purificó por cromatografía en fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio, 0–100 % de gradiente) para dar ácido *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-hidroxi-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (35,0 mg, 0,0800 mmol, 54 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,30 (s, 1H),

8,24 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,69 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,54 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,42 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 5,40 (s, 1H), 4,77 (d, $J = 4,0$ Hz, 2H), 3,61 (s, 1H), 2,95 (t, $J = 12,8$ Hz, 1H), 2,68 – 2,58 (m, 5H), 2,11 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,84 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 1,38 (q, $J = 12,4$ Hz, 1H). ES–LCMS m/z 455,0 $[M+H]^+$.

5 **Compuesto intermediario 44:** *rac*–(3a*R*,7*S*,7a*S*)–7–(4–bromofenil)–5–(metoximetil)hexahidroisobenzofuran–1(3*H*)–ona



Paso 1: *rac*–(3a*R*,7*S*,7a*S*)–7–(4–bromofenil)–5–(metoximetilen)hexahidroisobenzofuran–1(3*H*)–ona



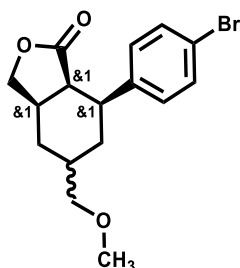
10

A una mezcla de cloruro de (metoximetil)trifenilfosfonio (6,65 g, 19,4 mmol) en tetrahidrofurano (100 mL) a 0 °C se añadió 2–metilpropan–2–olato de potasio (16,17 mL, 16,17 mmol, 1M en THF). Después de 1 h, *rac*–(3a*R*,7*S*,7a*S*)–7–(4–bromofenil)tetrahidroisobenzofuran–1,5(3*H*,4*H*)–diona **Compuesto intermediario 8 Paso 5** (5,0 g, 16,17 mmol) se añadió en porciones. La reacción se agitó a ta durante 14 h, se diluyó con agua (15 mL), se concentró y se sometió a purificación de fase inversa (0–100 % MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio) para dar *rac*–(3a*R*,7*S*,7a*S*)–7–(4–bromofenil)–5–(metoximetilen)hexahidroisobenzofuran–1(3*H*)–ona (2,0 g, 5,0 mmol, 31 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. (mezcla E/*Z*). ¹H RMN (400 MHz, DMSO–*d*₆)

15

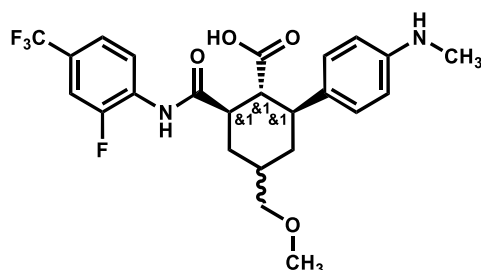
20 δ 7,46 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,28 (dd, $J = 8,5, 6,0$ Hz, 2H), 6,09 – 5,96 (m, 1H), 4,19 (td, $J = 9,0, 4,5$ Hz, 1H), 3,96 – 3,85 (m, 1H), 3,51 (s, 3H), 3,00 (ddt, $J = 17,4, 13,1, 4,3$ Hz, 1H), 2,85 (dd, $J = 14,0, 6,0$ Hz, 1H), 2,77 – 2,61 (m, 1H), 2,39 – 2,21 (m, 1H), 2,19 – 2,06 (m, 1H), 1,74 (dd, $J = 13,5, 10,5$ Hz, 1H), 1,48 (t, $J = 13,3$ Hz, 1H). ES–LCMS m/z pobre ionización.

Paso 2: *rac*-(3a*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona

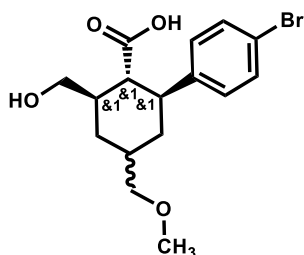


A una mezcla de *rac*-(3a*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (2,00 g, 5,93 mmol) en tetrahidrofurano (50 mL) se añadió platino sobre carbón al 10 % (0,814 g, 0,415 mmol), bajo nitrógeno. La reacción se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno con un balón (1 atm). La reacción se desgasificó por evacuación al vacío, luego se rellenaron con hidrógeno y este proceso se repitió tres veces. La mezcla se agitó a ta durante 16 h, se filtró a través de un taco de Celite, se concentró y se sometió a purificación de fase inversa (50–70 % MeCN en H₂O, 0,1 % de modificador de bicarbonato de amonio) para dar *rac*-(3a*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona (1,5 g, 4,0 mmol, 67 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,45 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,28 – 7,23 (m, 2H), 4,20 – 4,15 (m, 1H), 3,89 – 3,81 (m, 1H), 3,41 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,28 – 3,19 (m, 5H), 3,13 – 3,04 (m, 1H), 2,68 – 2,58 (m, 1H), 1,94 – 1,66 (m, 3H), 1,33 – 1,17 (m, 1H), 0,85 (q, *J* = 12,5 Hz, 1H). ES-LCMS *m/z* 339,0 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 45: ácido *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

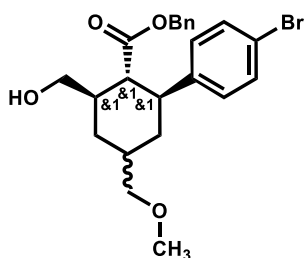


Paso 1: ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla de *rac*-(3a*R*,7*S*,7a*S*)-7-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)hexahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona **Compuesto intermedio 44** (1,50 g, 4,42 mmol) en metanol (15 mL) se añadió KOH (1,24 g, 22,1 mmol) y la reacción mezcla se agitó a 65 °C durante 16 h. La reacción se concentró, se neutralizó con 2N HCl hasta pH < 3 y el sólido precipitó. Este sólido se filtró, se lavó con agua (5 mL, 4 veces), se lavó con éter de petróleo (10 mL, 4 veces) y se secó para dar ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico (1,38 g, 3,32 mmol, 75 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino que se usó sin ulterior purificación. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,04 – 11,62 (m, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,54 (br dd, *J* = 4,7, 2,9 Hz, 1H), 3,50 – 3,35 (m, 2H), 3,30 – 3,13 (m, 5H), 2,90 – 2,64 (m, 1H), 2,31 – 2,17 (m, 1H), 2,03 – 1,87 (m, 1H), 1,85 – 1,54 (m, 3H), 1,16 (q, *J* = 12,5 Hz, 1H), 0,95 – 0,78 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 357,0 [M-H]⁻.

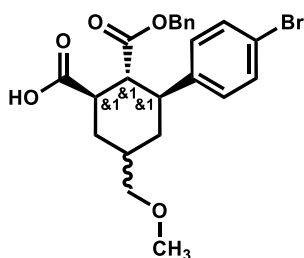
Paso 2: *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla de ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico (1,38 g, 3,86 mmol) y carbonato de potasio (1,60 g, 11,6 mmol) en DMF (15 mL) a 0 °C se añadió bromuro de bencilo (0,551 mL, 4,64 mmol), gota a gota durante 1 min. Después de 14 h a ta, agua (50 mL) se añadió y la reacción se extrajo con EtOAc (50 mL X 4). Las capas combinadas de EtOAc se lavaron con agua (20 mL X 4) y salmuera (20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron para dar material crudo. El material crudo resultante se sometió a purificación en fase normal (acetato de etilo en éter de petróleo, 40–60 % de gradiente, 50 min de corrida) para dar *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-

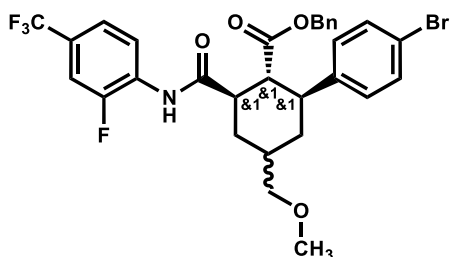
bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (1,68 g, 3,67 mmol, 95 % de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,51 – 7,39 (m, 2H), 7,34 – 7,20 (m, 3H), 7,19 – 7,11 (m, 2H), 6,93 – 6,80 (m, 2H), 4,94 – 4,84 (m, 1H), 4,77 – 4,64 (m, 1H), 4,63 – 4,48 (m, 1H), 3,45 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 3,32 – 3,15 (m, 6H), 2,90 – 2,70 (m, 1H), 2,47 – 2,35 (m, 1H), 1,95 – 1,61 (m, 4H), 1,28 – 1,20 (m, 1H), 1,02 – 0,84 (m, 1H). ES-LCMS m/z mostró pobre ionización.

Paso 3: ácido *rac*-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico



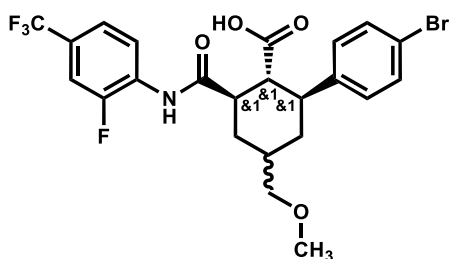
A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*S*,4*R*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-(hidroximetil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (1,67 g, 3,73 mmol) en MeCN (25 mL) y agua (12 mL) a 0 °C se añadió peryodato de sodio (1,60 g, 7,47 mmol) y cloruro de rutenio (III) (0,054 g, 0,26 mmol). Después de 30 min, agua (50 mL) se añadió y la mezcla se extrajo con EtOAc (50 mL X 3). La capa de EtOAc se lavó con agua (30 mL X 2) y salmuera (30 mL), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El residuo se trituró (con sonicación) en éter de petróleo (25 mL) dos veces para dar ácido *rac*-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico (1,44 g, 3,08 mmol, 83 % de rendimiento) en forma de un sólido marrón claro, que se usó sin ulterior purificación. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,45 (br s, 1H), 7,44 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,32 – 7,15 (m, 5H), 6,89 – 6,77 (m, 2H), 4,79 – 4,63 (m, 2H), 3,54 – 3,41 (m, 1H), 3,28 – 3,14 (m, 4H), 2,84 – 2,70 (m, 3H), 2,12 – 2,02 (m, 1H), 1,97 – 1,77 (m, 1H), 1,76 – 1,63 (m, 1H), 1,44 – 1,17 (m, 2H). ES-LCMS m/z 458,8 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Paso 4: *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*R*,3*S*)-2-((benciloxi)carbonil)-3-(4-bromofenil)-5-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico (0,70 g, 1,5 mmol) en MeCN (14 mL) se añadió 2-fluoro-4-(trifluorometil)anilina (326 mg, 1,82 mmol) (con sonicación) y 1-metil-1*H*-imidazol (747 mg, 9,10 mmol), secuencialmente, seguido después de 15 min por hexafluorofosfato de cloro-*N,N,N',N'*-tetrametilformamidinio (2,13 g, 7,59 mmol). Después de 16 h, la mezcla se concentró y se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en agua con 0,1 % de ácido fórmico, 50–80 % de gradiente) para dar a *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,950 g, 1,46 mmol, 96 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,86 (br s, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,20 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (br d, *J* = 11,0 Hz, 1H), 7,56 (br d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,51 – 7,44 (m, 2H), 7,23 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,60 – 3,48 (m, 1H), 3,29 – 3,13 (m, 4H), 3,11 – 2,99 (m, 1H), 2,88 – 2,71 (m, 2H), 2,24 – 2,03 (m, 1H), 1,96 – 1,83 (m, 1H), 1,75 (br d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 1,43 – 1,22 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 622,0 [M+H]⁺.

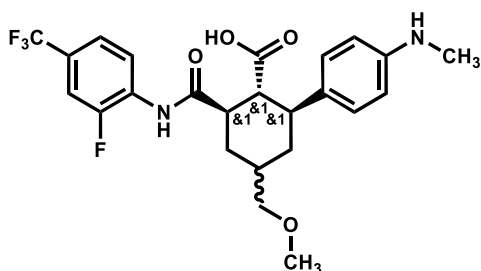
Paso 5: ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,900 g, 1,45 mmol) en DCM (10 mL) a –10 °C se añadió tricloruro de boro (5,78 mL, 5,78 mmol, 1M en DCM). Después de 45 min, 10 % de bicarbonato de sodio acuoso (5 mL) se añadió y la mezcla se concentró. El residuo resultante se extrajo en THF (3 mL) y agua (5 mL) y se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de ácido fórmico, 80–100 % de gradiente) para dar ácido *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-

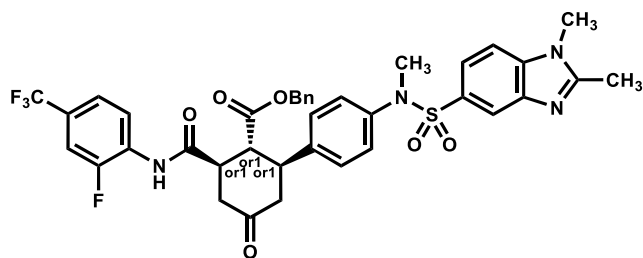
(trifluorometil)fenil)carbamoil)–4–(metoximetil)ciclohexan–1–carboxílico (0,750 g, 1,31 mmol, 91 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11,86 (br s, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,20 (t, J = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (br d, J = 11,0 Hz, 1H), 7,56 (br d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,51 – 7,44 (m, 2H), 7,23 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,60 – 3,48 (m, 1H), 3,29 – 3,13 (m, 4H), 3,11 – 2,99 (m, 1H), 2,88 – 2,71 (m, 2H), 2,24 – 2,03 (m, 1H), 1,96 – 1,83 (m, 1H), 1,75 (br d, J = 8,6 Hz, 1H), 1,44 – 1,21 (m, 1H). ES–LCMS m/z 532,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Paso 6: ácido *rac*–(1*R*,2*R*,6*S*)–2–((2-fluoro–4–(trifluorometil)fenil)carbamoil)–4–(metoximetil)–6–(4–(metilamino)fenil)ciclohexan–1–carboxílico

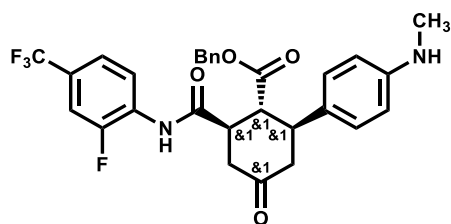


Una mezcla de ácido *rac*–(1*R*,2*S*,6*R*)–2–(4–bromofenil)–6–((2–fluoro–4–(trifluorometil)fenil)carbamoil)–4–(metoximetil)ciclohexan–1–carboxílico (350 mg, 0,657 mmol) y ter–butóxido de sodio (190 mg, 1,97 mmol) en dioxano (10 mL) se desgasificó durante 5 min. *t*BuXPhos Pd G3 (52 mg, 0,066 mmol) se añadió y la mezcla se desgasificó durante 5 min. Metanamina (2M en THF, 6,57 mL, 13,2 mmol) se añadió y la reacción se calentó a 100 °C durante 1 h. La mezcla se filtró a través de Celite, se concentró y el residuo resultante se sometió a purificación de fase inversa (MeCN en H₂O, 0,1 % de ácido fórmico, 30–60 % de gradiente) para dar ácido *rac*–(1*R*,2*R*,6*S*)–2–((2–fluoro–4–(trifluorometil)fenil)carbamoil)–4–(metoximetil)–6–(4–(metilamino)fenil)ciclohexan–1–carboxílico (350 mg, 0,522 mmol, 79 % de rendimiento) en forma de un sólido amarillo. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10,10 (s, 1H), 8,19 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,42 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,43 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 3,25 – 3,19 (m, 4H), 3,07 – 2,94 (m, 1H), 2,72 – 2,57 (m, 6H), 2,20 – 1,98 (m, 1H), 1,93 – 1,65 (m, 3H), 1,34 – 1,16 (m, 2H). ES–LCMS m/z 483,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Compuesto intermedio 46A: *rac*–(1*R*,2*R*,6*S*)–2–((2–fluoro–4–(trifluorometil)fenil)carbamoil)–4–oxo–6–(4–((*N*,1,2–trimetil–1*H*–benzo[*d*]imidazol)–5–sulfonamido)fenil)ciclohexan–1–carboxilato de bencilo

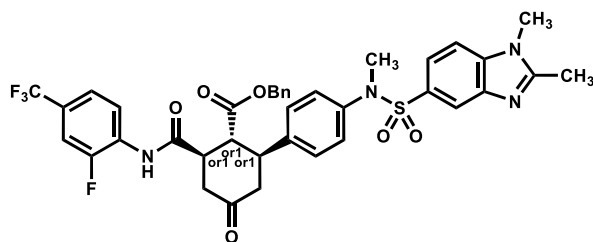


Paso 1: *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo



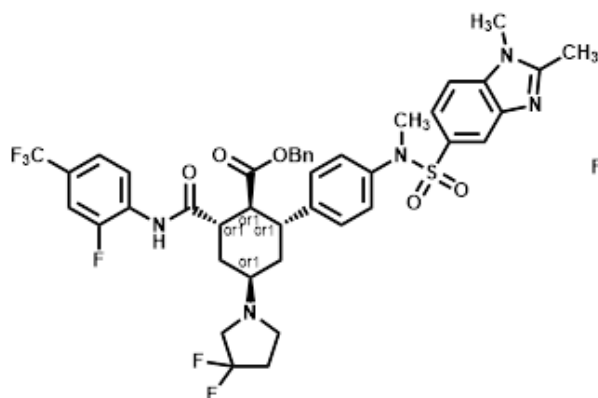
5 A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*S*,6*R*)-2-(4-bromofenil)-6-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo **Compuesto intermedio 11 Paso 4** (1,05 g, 1,77 mmol) y 2-metilpropan-2-olato de sodio (0,256 g, 2,66 mmol) en dioxano (30 mL) se añadió *t*BuXPhos Pd G3 (282 mg, 0,354 mmol) y la reacción se desgasificó durante 5 min. Metanamina (2M en THF, 17,7 mL, 35,4 mmol) se añadió y la
10 mezcla se sometió a microondas a 100 °C. Después de 1 h, la reacción se concentró y se sometió a purificación en fase normal (50–100 % EtOAc en éter de petróleo) para dar *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo (0,180 g, 0,265 mmol, 15,0 % de rendimiento) en forma de un sólido marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,26 (s, 1H), 8,15 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 11,0, 2,0 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,21 – 7,06 (m, 3H), 7,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,87 – 6,79 (m, 2H), 6,48 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 5,61 (q, *J* = 5,0 Hz, 1H), 4,73 (d, *J* = 1,5 Hz, 2H), 3,46 – 3,35 (m, 2H), 3,03 – 2,93 (m, 2H), 2,87 – 2,73 (m, 1H), 2,67 (d, *J* = 5,0 Hz, 3H), 2,58 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 2,31 – 2,22 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 541,3 [*M*-H]⁻.
15

Paso 2: *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxo-6-(4-
20 ((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo

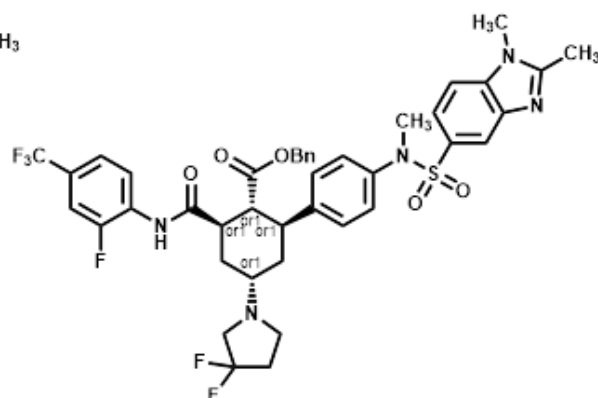


A una mezcla de *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)-4-oxociclohexan-1-carboxilato de bencilo (203 mg, 0,374 mmol) en diclorometano (10 mL) y piridina (0,091 mL, 1,1 mmol) a 0 °C se añadió cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-benzo[d]imidazol-5-sulfonilo (110 mg, 0,450 mmol), en porciones. La reacción se agitó a ta durante 45 min, se concentró y se sometió a purificación de fase inversa (0-90 % MeCN en H₂O, con 0,1 % de modificador de ácido fórmico) para dar *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxo-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (145 mg, 0,155 mmol, 41,4 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,29 (s, 1H), 8,14 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,74 (dd, *J* = 10,8, 1,8 Hz, 1H), 7,63 – 7,53 (m, 3H), 7,32 – 7,26 (m, 3H), 7,19 – 7,10 (m, 3H), 7,04 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,99 – 6,93 (m, 2H), 4,84 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,52 – 3,41 (m, 2H), 3,24 – 3,13 (m, 1H), 3,08 (s, 3H), 3,07 – 2,96 (m, 1H), 2,90 – 2,74 (m, 1H), 2,60 (d, *J* = 14,0 Hz, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,37 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H). ES-LCMS *m/z* 751,0 [M+H]⁺.

Compuesto intermedio 72 e Compuesto intermedio 73: *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 1 y *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 2

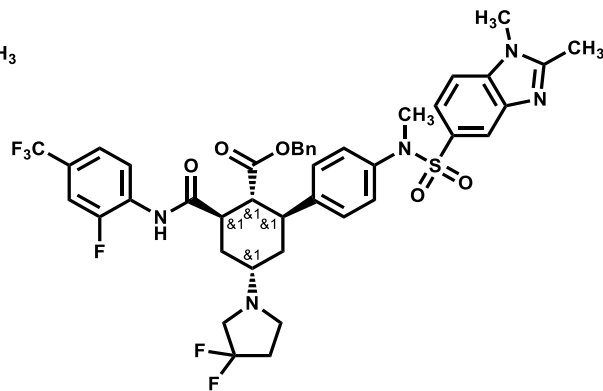
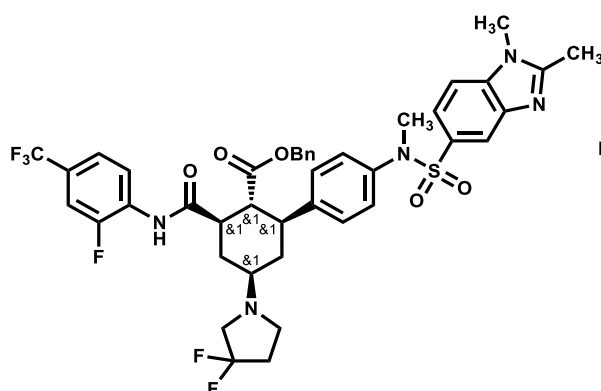


ISÓMERO 1



ISÓMERO 2

- Paso 1: *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y *rac*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo

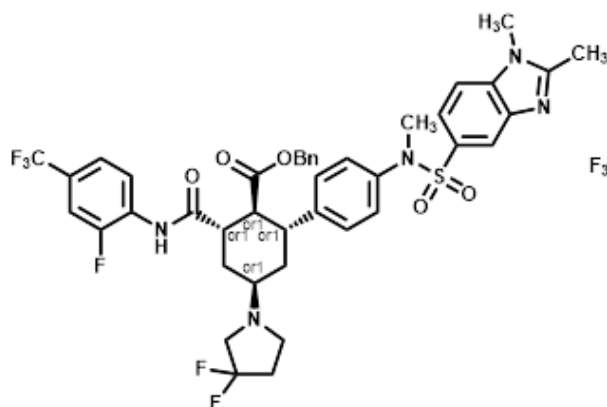


- Dos reacciones se corrieron en paralelo: una suspensión de *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-oxo-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (**Compuesto intermedio 46A**) (200 mg, 0,27 mmol; 100 mg, 0,13 mmol) y 3,3-difluoropirrolidina (86 mg, 0,80 mmol; 43 mg, 0,40 mmol) en MeOH (0,5 mL; 0,5 mL), THF (0,5 mL; 0,5 mL) y DMA (0,5 mL; 0,5 mL) se calentó hasta 80 °C. Después de 2 h, cianoborhidruro de sodio (25 mg, 0,40 mmol; 13 mg, 0,20 mmol) se añadió y las reacciones se añadieron durante 2 h a ta, se combinaron, se neutralizaron con agua, se diluyeron con MeOH (1 mL) y THF (2 mL), luego se purificaron por cromatografía en fase inversa (Columna: Grace C18 100 g), eluyendo con 0-100 % MeCN en 0,1 % de carbonato de amonio acuoso para obtener:

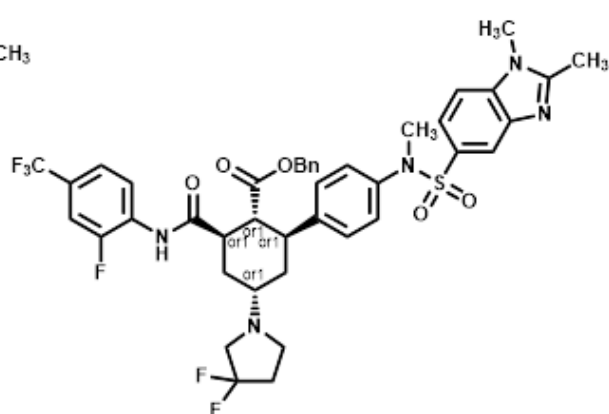
el primer compuesto de elución *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de (150 mg, 0,16 mmol, 59 % de rendimiento) en forma de un sólido marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,16 (s, 1H), 8,16 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 11,0, 2,0 Hz, 1H), 7,64 – 7,44 (m, 3H), 7,36 – 7,14 (m, 3H), 7,19 – 7,05 (m, 3H), 7,03 – 6,88 (m, 4H), 4,80 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 4,58 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,20 – 3,09 (m, 2H), 3,07 (s, 3H), 3,03 – 2,86 (m, 3H), 2,87 – 2,69 (m, 3H), 2,52 (s, 3H), 2,29 – 2,11 (m, 3H), 1,97 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,61 (q, *J* = 12,2 Hz, 1H), 1,50 – 1,39 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 842,2 [M+H]⁺. La estereoquímica relativa se determinó por la estructura cocrystalina de posterior compuesto final con proteína WRN y luego siguiendo hasta los correspondientes compuestos intermedios.

Y el segundo compuesto de elución *rac*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (110 mg, 0,13 mmol, 47 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,21 (s, 1H), 8,03 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,70 (dd, *J* = 10,8, 1,3 Hz, 1H), 7,62 – 7,56 (m, 2H), 7,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,21 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,15 – 7,04 (m, 3H), 7,00 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 4,83 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,40 – 3,38 (m, 2H), 3,07 (s, 3H), 2,94 – 2,83 (m, 3H), 2,76 – 2,67 (m, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,42 – 2,28 (m, 2H), 2,13 – 2,01 (m, 1H), 1,92 – 1,71 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 842,2 [M+H]⁺.

Paso 2: *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-((4-metoxibencil)amino)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 1 y *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-((4-metoxibencil)amino)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 2



ISÓMERO 1



ISÓMERO 2

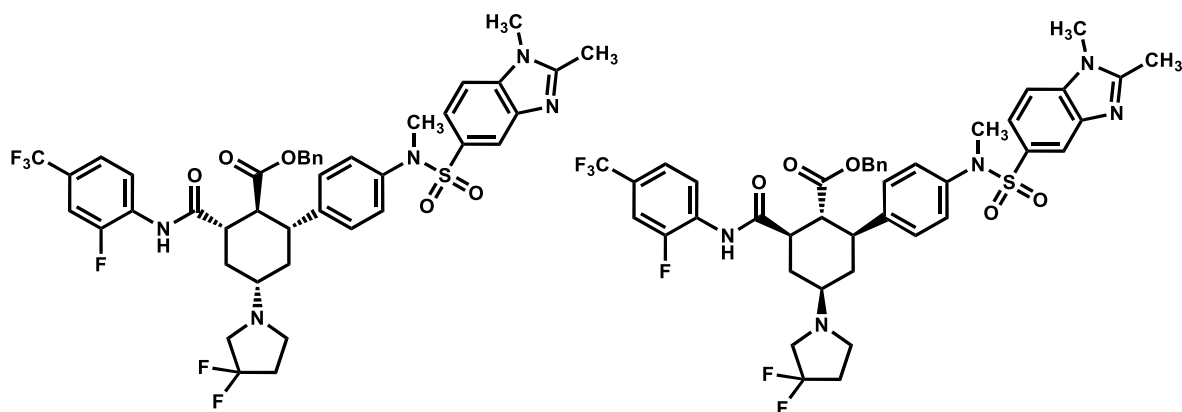
El compuesto racémico *rac*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (110 mg) se purificó por SFC prep quiral (Columna: YMC Amilose-SA; fase móvil A:CO₂, fase móvil B: 0,5 % isopropilamina en IPA; gradiente: 35 % B) para obtener:

el primer isómero de elución *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 1 (48 mg, 0,060 mmol, 41 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,21 (s, 1H), 8,03 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,63 – 7,56 (m, 2H), 7,55 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 7,16 – 7,03 (m, 3H), 7,00 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,93 – 6,89 (m, 2H), 4,83 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,45 – 3,34 (m, 2H), 3,23 – 3,09 (m, 2H), 3,07 (s, 3H), 3,03 – 2,92 (m, 2H), 2,90 – 2,71 (m, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,41 – 2,29 (m, 2H), 2,12 – 2,03 (m, 1H), 1,91 – 1,73 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 842,2 [M+H]⁺.

Y el segundo isómero de elución *rel*-(1*R*,2*R*,4*S*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo ISÓMERO 2 (44 mg, 0,050 mmol, 36 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,21 (s, 1H), 8,03 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (dd, *J* = 11,3, 1,8 Hz, 1H), 7,62 – 7,49 (m, 3H), 7,31 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,22 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,16 – 7,04 (m, 3H), 7,00 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,94 – 6,88 (m, 2H), 4,83 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 4,62 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 3,46 – 3,37 (m, 2H), 3,22 – 3,10 (m, 2H), 3,07 (s, 3H), 3,05 – 2,95 (m, 2H), 2,93 – 2,84 (m, 1H), 2,75

(d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 2,54 (s, 3H), 2,43 – 2,29 (m, 2H), 2,13 – 2,01 (m, 1H), 1,93 – 1,70 (m, 3H). ES-LCMS m/z 842,2 $[M+H]^+$.

Compuesto intermedio 74 e Compuesto intermedio 75: (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo y (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo



El compuesto racémico *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo del **Compuesto intermedio 72 e Compuesto intermedio 73, Paso 1**, el primer compuesto de elución (150 mg) se purificó por SFC prep quiral (Columna: YMC Cellulose-SC; fase móvil A:CO₂, fase móvil B: 0,5 % isopropilamina en IPA; gradiente: 50 % B) para obtener:

Compuesto intermedio 74: el primer isómero de elución (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (75 mg, 0,090 mmol, 48 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,17 (s, 1H), 8,17 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J = 11,0, 1,5$ Hz, 1H), 7,62 – 7,51 (m, 3H), 7,32 – 7,26 (m, 1H), 7,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,18 – 7,08 (m, 3H), 7,00 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,97 – 6,90 (m, 2H), 4,81 (d, $J = 13,0$ Hz, 1H), 4,59 (d, $J = 12,5$ Hz, 1H), 3,77 – 3,76 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,19 – 3,07 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,02 – 2,72 (m, 6H), 2,30 – 2,11 (m, 3H), 2,01 – 1,89 (m, 1H), 1,71 – 1,37 (m, 2H), 3 protones oscurecidos por picos de solvente. ES-LCMS m/z 842,2 $[M+H]^+$.

y

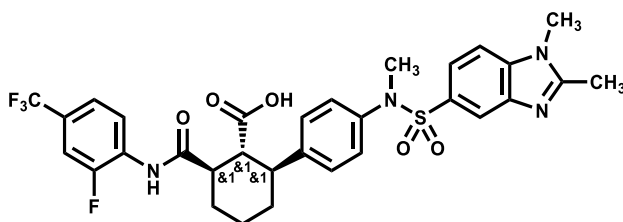
Compuesto intermedio 75: el segundo isómero de elución (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo (66 mg, 0,080 mmol, 42 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,17 (s, 1H), 8,17 (t, *J* = 8,3 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 11,0, 1,5 Hz, 1H), 7,64 – 7,49 (m, 3H), 7,31 (dd, *J* = 8,5, 2,0 Hz, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,18 – 7,07 (m, 3H), 7,00 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,96 – 6,90 (m, 2H), 4,81 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 4,59 (d, *J* = 13,0 Hz, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,84 – 3,66 (m, 1H), 3,20 – 3,11 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,03 – 2,75 (m, 6H), 2,53 (s, 3H), 2,31 – 2,09 (m, 3H), 1,97 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 1,68 – 1,37 (m, 2H). ES-LCMS *m/z* 842,2 [M+H]⁺.

La estereoquímica absoluta se determinó por estructura cocrystalina de posterior compuesto final con proteína WRN y rastreando hasta los correspondientes compuestos intermedios enantiopuros.

15 Ejemplos

Ejemplo 81

Ácido rac-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



20 A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico **Compuesto intermedio 6** (0,0550 g, 0,125 mmol) en DCM (2 mL) a 0 °C se añadieron piridina (0,030 mL, 0,38 mmol) y cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-sulfonilo (30,7 mg, 0,125 mmol).
25 Después de 1 h, la reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro, se concentraron, se disolvieron en DMF (2 mL) y se purificaron sobre sílice (columna C18 de 40 g), eluyendo con

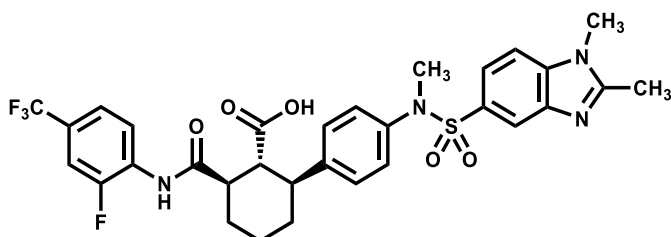
5–100 % de acetonitrilo en agua para dar ácidorac-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,030 g, 0,045 mmol, 36,0 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,03 (br, 1H), 10,09 (s, 1H), 8,22 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 10,4 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,57 – 7,51 (m, 1H), 7,25 (dd, *J* = 6,8, 1,6 Hz, 1H), 7,18 – 7,17 (m, 2H), 6,97 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,06 (s, 3H), 3,04 – 3,00 (m, 1H), 2,82 – 2,67 (m, 2H), 2,57 (s, 3H), 2,04 – 2,00 (m, 1H), 1,90 – 1,85 (m, 1H), 1,76 – 1,74 (m, 1H), 1,70 – 1,51 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 647,3 [M+H]⁺.

10 Ejemplo 83 y Ejemplo 84

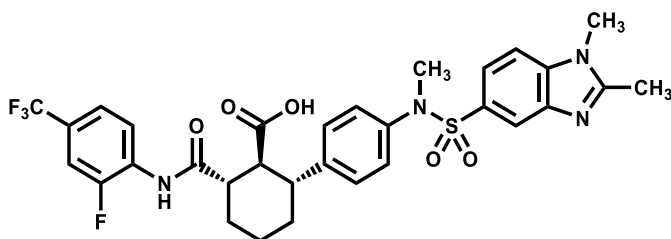
Ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

y

15 ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



y



20 El ácido Rac-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (**Ejemplo 81**) (0,030 g, 0,046 mmol) se purificó quiralmente (Columna: CHIRALPAK IE [2 mm X 25 mm, 5 micrones]; fase móvil: 81:19 hexano [0,2 % de ácido fórmico]:[1:1 EtOH:DCM])

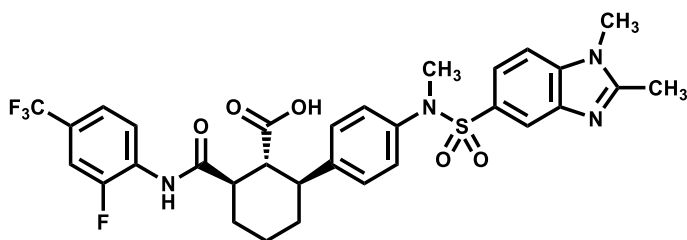
para dar:

Ejemplo 83, el primer isómero de elución: ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (9,0 mg, 0,014 mmol, 30 % de rendimiento). ¹H RMN (700 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,06 (br s, 1H), 10,10 (s, 1H), 8,22 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,24 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,05 (s, 3H), 3,00 (td, *J* = 11,4, 3,2 Hz, 1H), 2,78 (t, *J* = 11,6 Hz, 1H), 2,67 (td, *J* = 11,8, 3,2 Hz, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,05 – 1,97 (m, 1H), 1,91 – 1,84 (m, 1H), 1,79 – 1,72 (m, 1H), 1,65 – 1,57 (m, 1H), 1,53 – 1,51 (m, 1H), 1,53 – 1,50 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 647,2 [M+H]⁺. La estereoquímica absoluta se asignó por cocrystalización con proteína WRN.

Ejemplo 84, el segundo isómero de elución: ácido (1*S*,2*S*,6*R*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (8,9 mg, 0,014 mmol, 30 % de rendimiento). ¹H RMN (700 MHz, DMF-*d*₇) δ 12,06 (br s, 1H), 10,11 (s, 1H), 8,22 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,71 (d, *J* = 10,9 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,51 – 7,49 (m, 1H), 7,24 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,05 (s, 3H), 3,00 (td, *J* = 11,2, 3,1 Hz, 1H), 2,78 (t, *J* = 11,2 Hz, 1H), 2,67 (td, *J* = 11,8, 3,3 Hz, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,05 – 1,99 (m, 1H), 1,91 – 1,85 (m, 1H), 1,78 – 1,72 (m, 1H), 1,66 – 1,57 (m, 1H), 1,56 – 1,51 (m, 1H), 1,52 – 1,44 (m, 1H). ES-LCMS *m/z* 647,2 [M+H]⁺.

Ejemplo 83, segundo método de preparación

Ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



A una mezcla de (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (**Compuesto intermedio 7**) (0,180 kg, 411 mmol) en MeCN (1,08 L) a 0 °C se añadió TEA (62,3 g, 616 mmol) y cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-

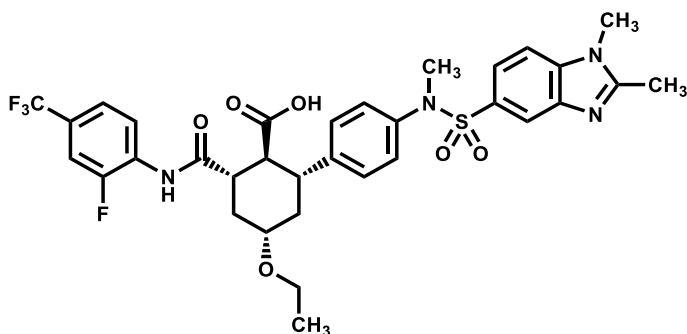
benzo[d]imidazol-5-sulfonilo (151 g, 616 mmol). La reacción se agitó a 25 °C durante 1 h. Agua (7,2 L) se añadió a la mezcla lentamente a ta. Después de 1 h, la reacción se filtró y el sólido resultante se lavó con agua (900 ml) para dar un residuo (200 g, 309 mmol) en forma de un sólido azul claro. Este residuo se trituró con MeCN (1,00 L) a 25 °C durante 2 h y se filtró. La torta filtrante se lavó con MeCN (100 mL) para dar un residuo (195 g, 301 mmol) que se disolvió en 5:1 DCM:MeOH (MeOH [650 mL] y DCM [3250 mL]) a 45 °C durante 40 min (hasta que la mezcla se volvió transparente). 21x Palladium Removal Silica Gel se añadió (30 % en peso de material crudo) a la mezcla, luego la mezcla se calentó a reflujo durante 12 hrs. La mezcla se filtró mientras estaba caliente, luego la torta filtrante se lavó con DCM (1,3 L). El filtrado se concentró a presión reducida a 35 °C durante 2 h para dar un residuo (177 g, 274 mmol). Este residuo se disolvió en 5:1 DCM:MeOH (MeOH [590 mL] y DCM [2950 mL]) a 45 °C durante 40 min (hasta que la mezcla se volvió transparente). 22x Palladium Removal Silica Gel se añadió (30 % en peso de material crudo) a la mezcla, luego la mezcla se calentó a reflujo durante 12 h. La mezcla se filtró mientras estaba caliente, ten la torta filtrante se lavó con DCM (1,2 L). El filtrado se concentró a presión reducida a 35 °C durante 2 h para dar un residuo que luego se concentró a presión reducida (-0,1 MPa) a 35 °C durante 4 h, para remover DCM y MeOH, para dar ácido (1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (168 g, 260 mmol, 63,2 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,1 (s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,70 – 7,73 (m, 2H), 7,60 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,29 (dd, *J* = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,07 (s, 3H), 2,97 – 3,03 (m, 1H), 2,75 – 2,80 (m, 1H), 2,67 – 2,70 (m, 1H), 2,63 (s, 3H), 2,01 – 2,03 (m, 1H), 1,88 – 1,89 (m, 1H), 1,74 – 1,77 (m, 1H), 1,50 – 1,61 (m, 3H). ES-LCMS *m/z* 647,3 [M+H]⁺.

25 **Ejemplo 137 y Ejemplo 138**

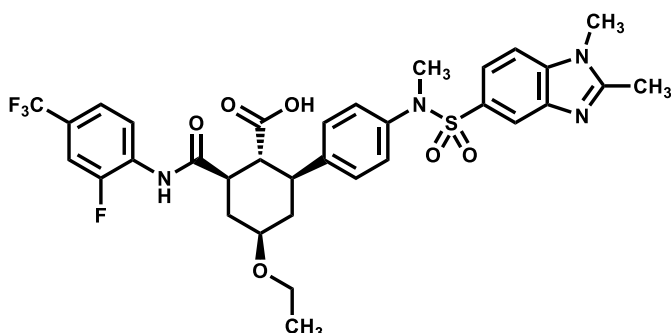
Ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

y

ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



y



A una mezcla 1:1 de ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-
 5 (trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido
 (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-
 (metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (**Compuesto intermedio 8**) (0,290 g, 0,601 mmol)
 y piridina (0,146 mL, 1,80 mmol) en diclorometano (3 mL) a 0°C se añadió cloruro de 1,2-
 dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-sulfonilo (294 mg, 1,20 mmol). Después de 1 h, la reacción
 10 se neutralizó con MeOH (2 mL), se concentró y se sometió a purificación de fase inversa
 (MeCN en H₂O, 10 mM de modificador de bicarbonato de amonio, 10–100 % de gradiente)
 para dar a 1:1 mezcla de ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-
 (trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-
 sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico y ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-
 15 (trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-
 sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,300 g, 0,426 mmol, 70,8 % de rendimiento).
 Este material se purificó quiralmente (Columna: YMC Amilose SA, 250 X 20 mm, 5µm; fase
 móvil: 1:1 CO₂:IPA) para dar:

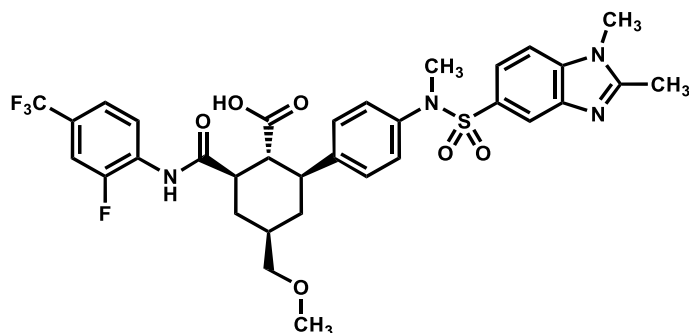
Ejemplo 137, el primer isómero de elución: ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-etoxi-2-((2-
 20 fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-
 sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (9,0 mg, 0,014 mmol, 30 % de rendimiento). ¹H

RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,13 (br s, 1H), 10,12 (s, 1H), 8,22 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,77 – 7,68 (m, 1H), 7,62 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,32 – 7,14 (m, 3H), 6,96 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,60 – 3,42 (m, 3H), 3,05 (s, 3H), 2,79 – 2,64 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,33 (dt, J = 3,6, 1,9 Hz, 2H), 2,05 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 1,56 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 1,51 – 1,34 (m, 1H), 1,10 (t, J = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS m/z 691,2 $[M+H]^+$.

Ejemplo 138, el segundo isómero de elución: ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-etoxi-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,13 g, 0,19 mmol, 43 % de rendimiento). 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,13 (br s, 1H), 10,12 (s, 1H), 8,22 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 7,77 – 7,68 (m, 1H), 7,62 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,48 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,32 – 7,14 (m, 3H), 6,96 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,60 – 3,42 (m, 3H), 3,05 (s, 3H), 2,79 – 2,64 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,33 (dt, J = 3,6, 1,9 Hz, 2H), 2,05 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 1,56 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 1,51 – 1,34 (m, 1H), 1,10 (t, J = 7,0 Hz, 3H). ES-LCMS m/z 691,2 $[M+H]^+$. La estereoquímica absoluta se asignó por cocrystalización con proteína WRN.

15 **Ejemplo 250**

Ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico

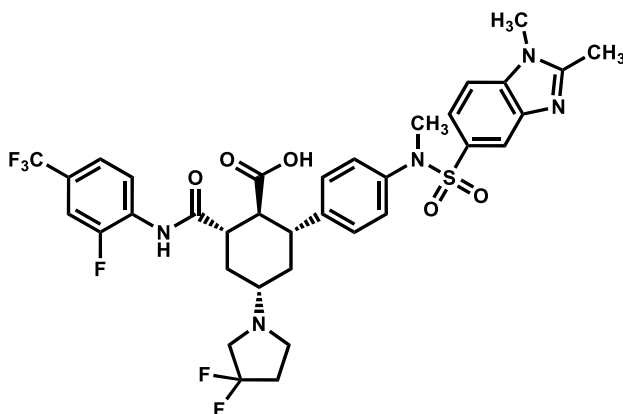


A una suspensión de *rac*-(1*R*,2*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)-6-(4-(metilamino)fenil)ciclohexan-1-carboxílico **Compuesto intermedio 45** (325 mg, 0,674 mmol) y cloruro de 1,2-dimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol-5-sulfonilo (0,330 g, 1,35 mmol) en diclorometano (0,5 mL) a 0 °C se añadió piridina (0,272 mL, 3,37 mmol). Después de 10 min la reacción se agitó a ta durante 1 h, la mezcla se concentró y se sometió a purificación de fase inversa (25–75 % MeCN en H₂O, 10 nM de modificador de bicarbonato de amonio) para dar ácido *rac*-(1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-

sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (0,150 g, 0,206 mmol, 30,6 % de rendimiento) en forma de un sólido blanquecino. El compuesto racémico se separó por SFC prep quiral (Columna: YMC Amilose-SA 250 X 20 mm, 5µm; 1:1 CO₂: 0,5 % isopropilamina en IPA) para dar el cuarto pico de elución ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-4-(metoximetil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (16 mg, 0,023 mmol, 11 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,05 (br s, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,21 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 11,0, 2,0 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,25 (dd, *J* = 8,5, 1,5 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,27 – 3,20 (m, 5H), 3,08 – 3,00 (m, 4H), 2,79 – 2,71 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 2,07 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 1,95 – 1,83 (m, 1H), 1,80 – 1,69 (m, 1H), 1,36 – 1,23 (m, 2H). ES-LCMS *m/z* 691,2 [M+H]⁺. La estereoquímica relativa se asignó por elucidación RMN de la estructura 2D y la estereoquímica absoluta se asignó por correlación conocida de SAR.

Ejemplo 305

Ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



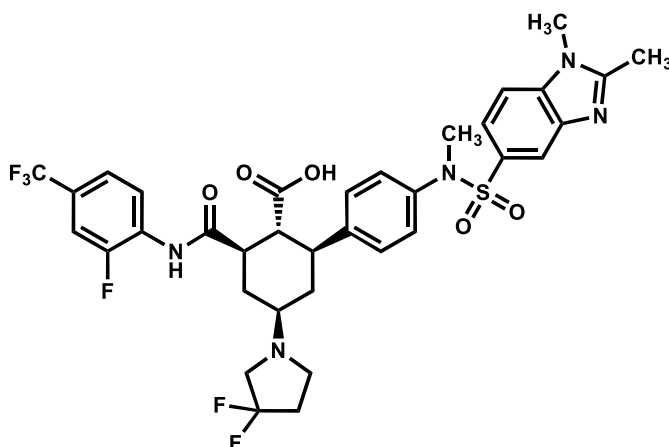
A una mezcla de (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((*N*,1,2-trimetil-1*H*-benzo[*d*]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo **Compuesto intermedio 74** (74 mg, 0,088 mmol) en diclorometano (2 mL) a 0 °C se añadió tricloruro de boro (1M en DCM, 0,30 mL, 0,30 mmol). Después de 2 h a rt, la reacción se neutralizó con agua (2 mL), se concentró y se sometió a purificación de fase inversa para dar ácido (1*S*,2*S*,4*S*,6*R*)-4-(3,3-

difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((N,1,2-trimetil-1H-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (40 mg, 0,053 mmol, 60 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,18 (s, 1H), 10,15 (s, 1H), 8,24 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,72 (dd, *J* = 10,8, 1,8 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,49 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,27 – 7,18 (m, 3H), 6,96 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,05 (s, 4H), 3,01 – 2,92 (m, 2H), 2,85 – 2,71 (m, 5H), 2,56 (s, 3H), 2,26 – 2,14 (m, 3H), 1,98 – 1,89 (m, 1H), 1,63 – 1,39 (m, 2H). ES-LCMS *m/z* 752,2 [M+H]⁺. La estereoquímica absoluta se asignó en base al Ejemplo 305 que era el enantiómero del Ejemplo 306.

10

Ejemplo 306

Ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((N,1,2-trimetil-1H-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico



15

A una mezcla de (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((N,1,2-trimetil-1H-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxilato de bencilo **Compuesto intermedio 75** (64 mg, 0,076 mmol) en diclorometano (2 mL) a 0 °C se añadió tricloruro de boro (1M en DCM, 0,30 mL, 0,30 mmol). Después de 2 h a ta, la reacción se neutralizó con agua (2 mL), se concentró y se sometió a purificación de fase inversa para dar ácido (1*R*,2*R*,4*R*,6*S*)-4-(3,3-difluoropirrolidin-1-il)-2-((2-fluoro-4-(trifluorometil)fenil)carbamoil)-6-(4-((N,1,2-trimetil-1H-benzo[d]imidazol)-5-sulfonamido)fenil)ciclohexan-1-carboxílico (22 mg, 0,028 mmol, 37 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,21 (s, 1H), 10,18 (s, 1H), 8,24 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,75 – 7,69 (m, 1H), 7,63 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,57 – 7,47 (m, 2H), 7,28 – 7,18 (m, 3H), 6,96 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,05 (s, 4H), 3,02 –

25

2,91 (m, 2H), 2,85 – 2,68 (m, 5H), 2,56 (s, 3H), 2,28 – 2,12 (m, 3H), 1,94 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 1,61 – 1,36 (m, 2H). ES–LCMS m/z 752,2 $[M+H]^+$. La estereoquímica absoluta se asignó por cocrystalización con proteína WRN.

Listado de abreviaturas seleccionadas:

- 5 4,4'–dtbbpi)NiCl₂ – dicloruro de [4,4'–Bis(1,1–dimetiletil)–2,2'–bipiridina] níquel (II)
- Aminosupersilano – *N*–(Adamantan–1–il)–1,1,1,3,3,3–hexametil–2–(trimetilsilil)trisilan–2–amina
- APhos Pd G3 – G3–(4–(*N,N*–Dimetilamino)fenil)di–*ter*–butilfosfina paladio, metansulfonato de [4–(Di–*ter*–butilfosfino)–*N,N*–dimetilanilin–2–(2'–aminobifenil)]paladio (II)
- 10 DBU – 1,8–diazabicyclo(5,4,0)undec–7–eno
- DCM –diclorometano
- DMF – *N,N*–dimetilformamida
- dppf Pd G3 – metansulfonato 1,1–ferrocenediil–bis(difenilfosfino) (2'–amino–1,1'–bifenil–2–il) paladio (II)
- 15 EtOAc – acetato de etilo
- i*–PrOH – isopropanol
- IPAm – isopropilamina
- [Ir(dtbbpi)(ppi)₂]PF₆ – hexafluorofosfato de [4,4'–*Bis*(1,1–dimetiletil)–2,2'–bipiridin–*N*1,*N*1']bis[2–(2–piridinil–*N*)fenil–C]iridio (III)
- 20 K₂CO₃ – carbonato de potasio
- MeCN – acetonitrilo
- MeOH – metanol
- Na₂CO₃ – carbonato de sodio
- NaH – hidruro de sodio

NH₄Cl – cloruro de amonio

NMI – *N*-metilimidazol

aducto de PdCl₂(dppf)-DCM – aducto de cloruro de paladio-1,1-ferrocenodiil-bis(difenilfosfino)-diclorometano

5 PE – éter de petróleo

TCFH – hexafluorofosfato de *N,N,N',N'*-tetrametilcloroformamidinio

TFA – ácido trifluoroacético

THF – tetrahidrofurano

TIPSOTf – trifluorometansulfonato de triisopropilsililo

10 TsOH – ácido *p*-toluensulfónico

Ejemplos biológicos

Ejemplo A

La actividad funcional de desenrollamiento del WRN puede medirse utilizando un ensayo fluorogénico en placa de 384 pocillos configurado para medir la separación del sustrato de ADN bicatenario marcado. Los compuestos se dosificaron en DMSO puro con un esquema de dilución en serie 1:3. Se estamparon 100 nL de compuesto en placas de ensayo negras de bajo volumen Greiner (Greiner Cat#784076) utilizando el dispensador acústico Echo para generar placas listas para el ensayo. Todas las soluciones se prepararon en tampón de ensayo (25 mM TRIS (pH 8,0), 5 mM de NaCl, 2 mM de MgCl₂, 1 mM de DTT, 0,05 % de BSA) para esta reacción de bajo volumen de 10 µL. Para preparar las soluciones, se preparó un cóctel enzimático WRN 2X que contenía 200 pM de proteína WRN recombinante de longitud completa (1–1432). Se preparó un cóctel de sustrato 2X con 200 µM de ATP (cualquier muestra de ATP ultrapuro) y 12 nM del oligómero de ADN de doble cadena marcado con fluorescencia (síntesis personalizada de IDT; 5'–5IABkFQ (SEQ ID NO. 1)/GCA CTG GCC GTC GTT TTA CGG TCG TGA CT–3' (SEQ ID NO. 2): 5'–TTT TTT ACT TAA CGA CGG CCA GTG C (SEQ ID NO. 3)/36–TAMTSP/–3' (SEQ ID NO. 4)). Para iniciar la reacción, se añadieron 5 µL de tampón de ensayo a una sola columna para que sirviera como control bajo. A continuación, se añadieron 5 µL de enzima WRN 2X en todos los pocillos

excepto en los de control bajo del tampón. Se cubrió la placa de reacción y se incubó a temperatura ambiente durante 4 horas para permitir la inhibición dependiente del tiempo si existía. Después de 4 horas, se añadieron 5 µl de cóctel de sustrato 2X-ATP/ADN en todos los pocillos de la placa de ensayo. Esto inició la reacción, ya que la placa se incubó a temperatura ambiente durante 60 minutos para que se produjera la reacción de desenrollado. Se preparó una solución de EDTA 10 mM y se añadieron 5 µl en toda la placa después de 60 minutos para apagar las muestras para una medición del punto final. La intensidad fluorescente se midió utilizando longitudes de onda de excitación y emisión de 525 nm y 598 nm, respectivamente. La intensidad fluorescente alta (DMSO con tampón) representa la inhibición total de la actividad de desenrollado y la intensidad fluorescente baja (DMSO con enzima) representa la no inhibición de la actividad de desenrollado. La potencia de los compuestos se determinó utilizando un modelo de inhibición de cuatro parámetros para generar pIC50, Hill Slope, inhibición máxima (véase la Tabla 2).

Ejemplo B

Las células de cáncer colorrectal humano SW48 (células cancerosas MSI-H) se obtuvieron de la American Type Culture Collection y se mantuvieron en un medio de crecimiento compuesto por RPMI-1640 suplementado con un 10 % de suero bovino fetal. Las células se mantuvieron en un incubador humidificado con un 5 % de CO₂ a 37 °C. La disociación celular se realizó utilizando TrypLE Select para separar las células de los frascos de cultivo. Tras la disociación, las células se centrifugaron brevemente y se resuspendieron en medio de ensayo RPMI-1640 +10 % de suero bovino fetal. Se prepararon placas de ensayo negras de 384 pocillos a partir de placas fuente de DMSO y compuestos disueltos en DMSO antes de la dispensación celular. Estas placas fuente se prepararon en diluciones seriadas triplicadas de once puntos a partir de reservas de 10 mM almacenadas a 4 °C. Los compuestos y los controles de DMSO se distribuyeron en placas negras de 384 pocillos. Los compuestos y los controles de DMSO se dispensaron en placas de ensayo a 150 nanolitros por pocillo a partir de placas fuente utilizando dispensadores Labcyte Echo 555 o Echo 655T con columna 6 y columna 18 conteniendo sólo DMSO. A continuación, las células se sembraron en placas de ensayo preparadas en 50 microlitros de medio de ensayo a 250 células por pocillo en las Columnas 1 a 17 y las Columnas 19–24. Se añadió medio de ensayo sin células a la columna 18 para que sirviera como sustituto del 100 % de citotoxicidad celular. Tras 120 horas de incubación en una incubadora humidificada con un 5 % de CO₂ a 37 °C, se midió la concentración de ATP celular de cada pocillo y se utilizó como sustituto de la viabilidad celular. Para ello, se añadieron 50 microlitros de reactivo CellTiter-Glo a cada pocillo y se

incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. La luminiscencia se midió en un lector de placas multimodo Synergy Neo o Synergy Neo2. La respuesta citotóxica del compuesto (%C) se normalizó con respecto a las medias robustas de la columna 6 (Control 1, citotoxicidad del 0 %) y la columna 18 (Control 2, citotoxicidad del 100 %) y se calculó el % de citotoxicidad normalizado (%C). $\%C = 100 - 100 * ((\text{Compuesto} - \text{Control 2}) / (\text{Control 1} - \text{Control 2}))$. Estos datos normalizados se utilizaron luego para determinar una respuesta citotóxica del 50 % (CC50) utilizando el modelo de curva logística de 4 parámetros 201 en Activity Base XE:

$$\text{Ajuste de Modelo Logístico de Cuatro (4) Parámetros} = A + (B - A) / (1 + (10^{C/x})^D),$$

donde A = asíntota mínima (% citotoxicidad), B = asíntota máxima (% citotoxicidad), C = Log CC50 (pCC50), D = pendiente Hill, y x = [inhibidor], (M).

Los datos de la actividad de desenrollamiento del WRN y los datos de viabilidad celular se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Ejemplo No.	4 hr UNW pIC ₅₀	SW48 pCC ₅₀
81	8,1	5,9
83	8,6	6,6
84	6,8	5,3
137	6,6	
138	8,5	6,6
250	8,2	6,5
305	6,5	
306	8,3	7,0

Ejemplo C

Se observó que los compuestos de la presente divulgación se unen a los medios de ensayo celular en diversos grados, lo que afectaría al análisis de la potencia celular en el Ejemplo B. Para medir la potencia del fármaco libre, las concentraciones utilizadas en los ensayos celulares se corrigieron con la fracción libre medida determinada en los medios de ensayo celular. Los compuestos se incubaron en una diálisis de equilibrio rápido (RED) a una concentración nominal de 1 µM, utilizando un tampón de diálisis de solución salina tamponada con fosfato (PBS, 100 mM de fosfato sódico + 150 mM de cloruro sódico, pH 7,4). El

compuesto de ensayo se introdujo en el medio. Se añadieron alícuotas a los pocillos donantes de una placa RED por triplicado, y se añadió PBS blanco a cada pocillo receptor, en los volúmenes recomendados por el fabricante. Las placas se incubaron con agitación a 200 rpm durante 4 horas a 37 °C. Las muestras resultantes se analizaron por LC–MS/MS utilizando un método específico y sensible. Los resultados se comunicaron como relaciones de área de pico analito:patrón interno (PAR), y el porcentaje no unido se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{No unido} = 100 \times ((1/D)) / \{[(1/(F_u \text{ aparente})) - 1] + 1/D\},$$

donde D = el factor de dilución de la matriz (D = 1 para medios); $F_u \text{ aparente} = C_{\text{rec}}/C_{\text{don}}$; C_{rec} = PAR en muestras receptoras; C_{don} = PAR en muestras donantes.

El porcentaje de estabilidad se calculó mediante:

$$\% \text{Estabilidad} = 100 \times C_{\text{final}}/C_{\text{inicial}},$$

donde C_{final} = PAR en la muestra de T=240 minutos; C_{inicial} = PAR en la muestra de T=0 minutos.

En la Tabla 3 se muestra el porcentaje no unido de los medios de cultivo celular y la potencia calculada del fármaco libre de los compuestos seleccionados junto con su potencia medida del Ejemplo B.

Tabla 3

Ejemplo N.º	SW48 pCC ₅₀	Unión de medio de cultivo celular (% no unido)	Fármaco libre SW48 pCC ₅₀
83	6,6	6,5	7,89
138	6,6	6,7	7,77
250	6,5	2,7	8,07
306	7,0	10,3	7,99

Ejemplo D

Estudio de eficacia in vivo de los compuestos de ensayo en un modelo de ratón portador de xenoinjertos de la línea celular de cáncer colorrectal humano SW48

Los experimentos se realizaron con ratones desnudos hembra Crl:Nu–Foxn1nu. Los

animales se alojaron en condiciones higiénicas optimizadas con comida y agua a voluntad y un ciclo de luz:oscuridad de 12h:12h. Se dejó que los animales se aclimataran durante al menos 4 días antes de incluirlos en el diseño experimental.

5 Las células de cáncer colorrectal humano SW48 (RRID:CVCL1724) se obtuvieron de ATCC. Las células se cultivaron en RPMI 1640 con 10 % de Suero Fetal Bovino a 37 °C en atmósfera de 5 % CO₂ en aire. Para establecer xenoinjertos SW48, se cosecharon las células y se volvieron a suspender en RPMI1640 sin suero y Matrigel antes de la inoculación y se inyectaron 5 x 10⁶ células tumorales SW48 por vía subcutánea en 100 µL de volumen utilizando una aguja 27G1/2. Las células se inocularon en el flanco posterior derecho de los
10 animales.

Tras la inoculación de las células, se controló diariamente el crecimiento tumoral y los animales se asignaron aleatoriamente a los grupos de tratamiento (n=10/grupo) una vez que el volumen tumoral alcanzó un tamaño adecuado (80–150 mm³). A lo largo del periodo de tratamiento, se midieron tanto el volumen tumoral como el peso corporal aproximadamente
15 dos veces por semana. El tamaño del tumor, en mm³, se calculó mediante la fórmula $0,5 \times L \times W^2$, en donde W = anchura y L = longitud del tumor.

Para preparar un compuesto de ensayo para su administración oral, se disolvieron entre 30 y 120 mg del compuesto de ensayo en una solución vehículo formada por 0,5 % de metilcelulosa (cp 400) y 0,5 % de Tween 80. El compuesto se preparó fresco una hora antes
20 de la administración oral. El compuesto se preparó en fresco una hora antes de la administración diaria. Si se observaba turbidez, la solución se agitaba en vórtex a más de 2000 rpm durante 10 minutos y se mezclaba con una jeringa de 1 mL. La solución resultante se utilizó para los estudios in vivo.

Los animales recibieron un vehículo o los compuestos de ensayo en dosis de 30 o 100
25 mg/kg diarios por sonda oral (10 ml/kg). El peso corporal se midió dos veces por semana con la balanza electrónica Ohaus (STX421) y los datos se añadieron automáticamente al registro del estudio. Además, se realizaron observaciones clínicas diarias para controlar de cerca a los animales.

La inhibición del crecimiento tumoral se calculó mediante la siguiente fórmula:

30
$$\text{Inhibición } \Delta \% \text{ media} = \frac{[(\text{Media (C)} - \text{Media (C}_0)) - (\text{Media (T)} - \text{Media (T}_0))]}{(\text{Media (C)} - \text{Media (C}_0))} \times 100 \%,$$

donde T = valor del grupo actual; T₀ = valor inicial del grupo actual; C = valor del grupo de control; C₀ = valor inicial del grupo de control.

Los datos del volumen tumoral se exportaron y analizaron en GraphPad Prism (9.5). El análisis incluyó una prueba ANOVA de dos vías, comparando el control con vehículo frente a los tratamientos en diferentes puntos temporales, seguida de una prueba post hoc HSD de Tukey.

El cálculo de la regresión tumoral se realizó según la siguiente fórmula:

Regresión tumoral = (Δ volumen tumoral / volumen tumoral en el Día 0) * 100,

donde Día 0 = día de inicio del tratamiento; Δ volumen tumoral = volumen tumoral medio en el día de evaluación – volumen tumoral medio Día 0.

El tratamiento comenzó con el compuesto del Ejemplo 138 a una dosis de 30 mpk, que se administró por vía oral una vez al día cuando el volumen tumoral medio alcanzó 117,6 mm³ (n=10/grupo). El curso del tratamiento con el Ejemplo 138 duró 21 días, tras los cuales se evaluó su eficacia global basándose en los cambios en el volumen tumoral, como se ilustra en la Figura 1. En el día 21, se observó una regresión tumoral media de –74,26 %.

Los datos de eficacia asociados con el compuesto del Ejemplo 83 se representan en la Figura 2. El tratamiento se inició con una administración oral diaria del compuesto a una dosis de 100 mpk, una vez que el volumen tumoral medio alcanzó 97,2 mm³ (n=10/grupo). Al día 55, se observó una regresión tumoral media significativa del –24,01 % en el tumor SW48.

Los datos de eficacia del compuesto del Ejemplo 250 se representan en la Figura 3. La administración oral diaria del compuesto a una dosis de 30 mpk se inició cuando el volumen tumoral medio alcanzó 103,18 mm³ (n=10/grupo). Al día 21, se observó en los tumores SW48 una inhibición significativa del crecimiento tumoral del 72,95 % en comparación con el control con vehículo (p<0,0001).

Los datos de eficacia del compuesto del Ejemplo 306 se representan en la Figura 4. La administración oral diaria del compuesto a una dosis de 30 mpk se inició cuando el volumen tumoral medio era de 103,13 mm³ (n=10/grupo). Al día 23, se observó una regresión tumoral media significativa del –73,2 % en el tumor SW48.

Todas las solicitudes de patentes, patentes y publicaciones impresas citadas en este documento se incorporan aquí por referencia en su totalidad, a excepción de las definiciones,

renuncias de materia o desmentidos, y excepto en la medida en que el material incorporado es incompatible con la divulgación expresa en este documento, en cuyo caso rige el lenguaje en esta divulgación.